UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

MIRELE GRASIELE CARVALHO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *IN VITRO* DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS FRESCAS DA *Aloe vera (L)*. NA DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA PLASMÁTICA.

Juazeiro do Norte – CE
2023

MIRELE GRASIELE CARVALHO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA IN VITRO DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS FRESCAS DA *Aloe vera (L).* NA DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA PLASMÁTICA.

Trabalho de Conclusão de Curso – 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: Prof. Dra. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro.

Juazeiro do Norte – CE
2023

MIRELE GRASIELE CARVALHO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *IN VITRO* DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS FRESCAS DA *Aloe vera* (L). NA DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA PLASMÁTICA.

Trabalho de Conclusão de Curso – 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: Prof.ª Dra. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro

Data de aprovação:___/___/___

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof(a): Prof.ª Dra. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro
Orientador

_____

Prof(a): Prof.º Me. José Walber Gonçalves Castro
Examinador 1

_____

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

Dedico esse trabalho a minha família
que é minha maior fortaleza!

AGRADECIMENTOS

Um dos sentimentos mais bonitos é a gratidão, então agradeço primeiramente ao meu Deus, que é a minha âncora, a minha mazinha do céu que é a luz nos meus dias escuros. Agradeço a minha orientadora Karol por toda paciência a mim ofertada durante a esse processo que foi a formação dessa pesquisa.

Aos meus pais que mesmo com toda dificuldade criaram 5 filhas com princípios e caráter honráveis, em especial a minha mãe que muitas vezes fez o impossível para me ofertar um estudo de qualidade.

As minhas irmãs, Mara, Romana, Monaliza e Gabriela, que sempre foram meu maior exemplo, seja pela garra de buscar aquilo que se quer, pelas opiniões fortes, pela coragem de ser elas mesma e pelo amor e carinho ofertados a mim, sempre será sobre nós!

As minhas amigas e futuras colegas de profissão, Diara e Luana que me encorajam e me engrandeceram até mesmo quando não consigo e por acreditarem e no meu potencial, vocês fizeram essa caminhada ser mais leve e divertida.

Minhas amigas de adolescência. Gaby e Joyce que mesmo hoje estando em outra fase de suas vidas foram para mim muito importante no aprendizado da vida, afinal crescer dói e enfrentar a transição de criança para adolescência com pessoas especiais como vocês foi maravilhoso. Vocês me fizeram acreditar que eu seria capaz de ter um diploma, vencemos!

Ao meus sobrinhos, obrigado por serem os melhores presentes da minha vida, vocês são a luz da minha vida e a razão das minhas mais sinceras risadas.

Por fim a todos aqueles que diretamente e indiretamente contribuíram para a realização dessa pesquisa e da minha formação acadêmica.

AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *IN VITRO* DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS FRESCAS DA *Aloe vera* (L). NA DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA PLASMÁTICA.

Mirele Grasiele Carvalho Nascimento[1]; Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro[2].

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a interferência *in vitro* do Extrato Aquoso da *Aloe vera* (EAAV) na determinação da glicemia. Para obtenção do extrato as folhas frescas da babosa foram coletadas no município de Crato – Ceará com posterior identificação RB01446014 por meio do herbário virtual REFLORA. As folhas foram selecionadas, em seguida trituraras e submersas em água para fervura e posterior liofilização. Após isso, foram realizadas diluição com o reagente *tween* para obtenção de uma concentração inicial de 10 mg/dL do extrato. Para a análise *in vitro* foi preparado um *pool* de amostras de plasma fluoretado obtidas através no Laboratório escola de análises clínicas da Unileão – Juazeiro do Norte- CE. As dosagens da glicemia foram obtidas utilizando o espectrofotômetro no filtro de 505nm para a leitura dos controles e do teste com adição de diferentes concentrações do extrato 10%; 5% 2,5%; 1,25%; 0,62% e 0,31%. O controle utilizado foi o *pool* de plasma preparado, sem a presença do extrato e também foram realizados controles de diluição. Para as dosagens foi utilizada a metodologia do kit *LABTEST* 2011 e o trabalho foi submetido ao comitê de ética da Universidade Regional do Cariri. Os resultados demonstraram que o extrato interfere exponencialmente na medição da glicemia de acordo com a concentração do extrato e isso pode ter relação com a alteração da absorbância devido a cor do material observada. Na menor concentração, foi possível verificar uma diminuição no valor da glicemia, entretanto o resultado do controle de diluição foi semelhante. Diante desses resultados, o presente estudo conclui que o extrato em questão interfere no valor da glicemia e apresenta como perspectiva futura, a ideia da realização desses testes por meio de metodologia de automação para experimentos com menores concentrações do extrato e por meio de metodologias com princípios diferentes.

Palavras-chave: Babosa. Glicose. Interferência *in vitro*.

[1] Discente do curso de Biomedicina. mirelegrasielebiomed@gmailcom. Centro Universitário Leão Sampaio.
[2] Docente do curso de Biomedicina. karollynasilva@leaosampaio.edu.br . Centro Universitário Leão Sampaio

EVALUATION OF THE *IN VITRO* INTERFERENCE OF AQUEOUS EXTRACT OF FRESH LEAVES OF *Aloe vera* (L). IN THE DETERMINATION OF PLASMA GLYCEMIA.

ABSTRACT

The present work aimed to evaluate the in vitro interference of Aloe vera aqueous extract (EAAV) in blood glucose determination. To obtain the extract, fresh aloe vera leaves were collected in the city of Crato - Ceará with later identification RB01446014 through the virtual herbarium REFLORA. The leaves were selected, then triturated and submerged in water to boil and then lyophilized. After that, dilutions were made with tween reagent to obtain an initial concentration of 10 mg/dL of the extract. For in vitro analysis a pool of fluorinated plasma samples was prepared and obtained from the Laboratory School of Clinical Analysis of the Unileão - Juazeiro do Norte- CE. The blood glucose levels were obtained using the spectrophotometer in the 505nm filter for reading the controls and the test with the addition of different concentrations of the extract 10%; 5% 2.5%; 1.25%; 0.62% and 0.31%. The control used was the plasma pool prepared without the presence of the extract, and dilution controls were also performed. For the dosages the kit LABTEST 2011 methodology was used and the work was submitted to the ethics committee of the Universidade Regional do Cariri. The results showed that the extract interferes exponentially in the measurement of blood glucose according to the concentration of the extract and this may be related to the change in absorbance due to the color of the material observed. At the lowest concentration, it was possible to see a decrease in the blood glucose value, however the result of the dilution control was similar. Given these results, this study concludes that the extract in question interferes in the value of blood glucose and presents as a future perspective, the idea of performing these tests through automation methodology for experiments with lower concentrations of the extract and through methodologies with different principles.

Keywords: *Aloe Vera*. Glucose. *In vitro* interference.

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (2009), o Diabetes *Mellitus* é uma patologia crônica induzida pela falta de insulina ou sua incapacidade de ser utilizada adequadamente pelo organismo. O hormônio insulina é produzido no pâncreas tendo como função primordial controlar os níveis de glicose na corrente sanguínea, a falta desse hormônio provoca deficiência no processo de metabolização da glicose, caracterizando o diabetes, quando em altas concentrações na corrente sanguínea é conhecido como hiperglicemia.

Em consequência a pandemia do covid-19 criou-se uma enorme pressão sobre os sistemas de saúde, economia e nosso modo de vida. Em decorrência dessa condição agravou-se os casos de níveis de diabetes, em virtude dos efeitos adversos que os medicamentos sintéticos causam em alguns pacientes, deste modo, os profissionais da saúde buscam alternativas naturais em plantas e ervas medicinais de fácil acesso, afim de evitar os efeitos colaterais (SOUZA,2022).

Deste modo, foram utilizados artigos científicos contendo como principal referências plantas encontradas na chapada do Araripe, por possuir uma das maiores áreas da região contendo uma enorme diversificação de espécies de plantas utilizadas para fins medicinais, comprovadas cientificamente estando relacionadas com o tratamento de diversas patologias, sobretudo aquelas relacionadas a processos inflamatórios, *Aloe vera* destaca-se por possui diversos benefícios para o tratamento de enfermidades e ser de fácil cultivo (BRAULIO et al., 2020).

Aloe vera é uma planta popularmente conhecida como babosa, possui diversas atividades biológicas e se desenvolve em regiões tropicais e subtropicais, possui diversas finalidades terapêuticas cientificamente comprovadas, deste modo, é possível compreender que a avaliação acerca da capacidade hipoglicemiante da babosa se torna importante para o desenvolvimento de tratamento através de medicamentos naturais e econômico afim de proporcionar tratamento de qualidade e acessível para pacientes diabéticos (FILHO et al., 2022).

Ainda assim estudos apontam que os melhores resultados de hipoglicemia relacionados ao tratamento com a babosa, apresentam-se em tratamento em pacientes com diabetes tipo II, relacionados ao habito alimentar, no entanto, seus princípios ativos também apresentam resultados significativos na redução da glicemia de jejum, na diminuição de triglicerídeos e na redução da hemoglobina glicosada (ANDRADE et al., 2016).

Paralelo aos estudos que mostram melhor resultado em pacientes diabéticos tipo II o estudo de Negri (2005) valida a hipótese da ação hipoglicemiante do extrato aquosos das folhas de *Aloe vera*, Negri submeteu ratos portadores de diabetes tanto do tipo I quanto do tipo II ao extrato aquoso, a pesquisa mostrou um efeito mais eficaz que o medicamento glibencamida, amplamente utilizado para o tratamento da doença, quando tratado de um paciente do tipo II.

Frente a essa realidade fez-se importante a realização da obtenção do extrato aquoso das folhas fresca da *Aloe vera* para a realização da analise *in vitro* das amostras biológicas coletadas em plasma fluoretado afim de analisar a interferências do extrato na glicemia plasmática.

2 METERIAS E MÉTODOS

2.1 COLETA E SELEÇÃO DO EXTRATO

Foram coletadas 500 g de folhas frescas da *Aloe vera L.* na Chapada do Araripe, localizado na zona rural do município do Crato, CE.

As folhas frescas da *Aloe vera L.* foram devidamente selecionadas, depois trituradas com intuito de aumentar a superfície de contato, submersas em água e aquecidas até ebulição. Após este período o material foi filtrado, armazenado em recipientes de 145 mL e levados ao freezer para congelamento. Em seguida o extrato foi liofilizado em liofilizador modelo *Liotop* L101. Após a liofilização foi acondicionado em vidro âmbar e armazenados em congelador até a realização das análises (SIMÕES et al., 2010).

2.2 ANÁLISE DO EFEITO DO EXTRATO NA DOSAGEM DE GLICEMIA PLASMÁTICA

A metodologia para avaliação da interferência *in vitro* do extrato aquoso das folhas frescas da *Aloe vera L.* foi baseada no estudo de Sampaio (2022) com adaptações. Foram obtidas oito amostras de plasma fluoretado através no Laboratório escola de análises clínicas da Unileão – Juazeiro do Norte-CE e posteriormente foi preparado um pool para dosagem da glicemia.

Para realização dos testes, foi preparada uma concentração mãe de 10 mg/dL por meio da diluição em *TWEEN*-20 e água destilada. Desta solução foram utilizados respectivamente as respectivas concentrações (TABELA 1) para preparo dos tubos testes utilizados da

dosagem da glicemia. Todos as dosagens foram realizadas em triplicata.

Tabela 1: Valores utilizados na preparação dos testes em cada concentração.

Concentrações do extrato aquoso (EAAV).	Valor do Reagente 1 (R1) µl	Valor em microlitros do (EAAV)	Valor do *pool* µl
10%	1800 µl	200 µl	20 µl
5%	1900 µl	100 µl	20 µl
2,5%	1950 µl	50 µl	20 µl
1,25%	1975 µl	25µl	20 µl
0,62%	1987,5 µl	12,5 µl	20 µl
0,31%	1993,7 µl	6,25 µl	20 µl

Fonte: Própria do autor.

Para validação dos testes, também foram preparados outros tubos substituindo o volume do extrato por água destilada, a fim de realizar um controle de diluição.

As dosagens da glicemia foram obtidas pelo espectrofotômetro no filtro de 505nm para a leitura dos controles e do teste. O controle utilizado foi o pool de plasma preparado, sem a presença do extrato além dos controles de diluição. Para as dosagens foi utilizada a metodologia enzimática do kit *LABTEST* 2011.

2.3 COMITÊ DE ÉTICA

A pesquisa foi submetida a análise do comitê de ética em pesquisa da Universidade Regional do Cariri através da Plataforma Brasil obedecendo aos critérios disposta na Resolução n° 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) com CAAE 69263723.2.0000.5055.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

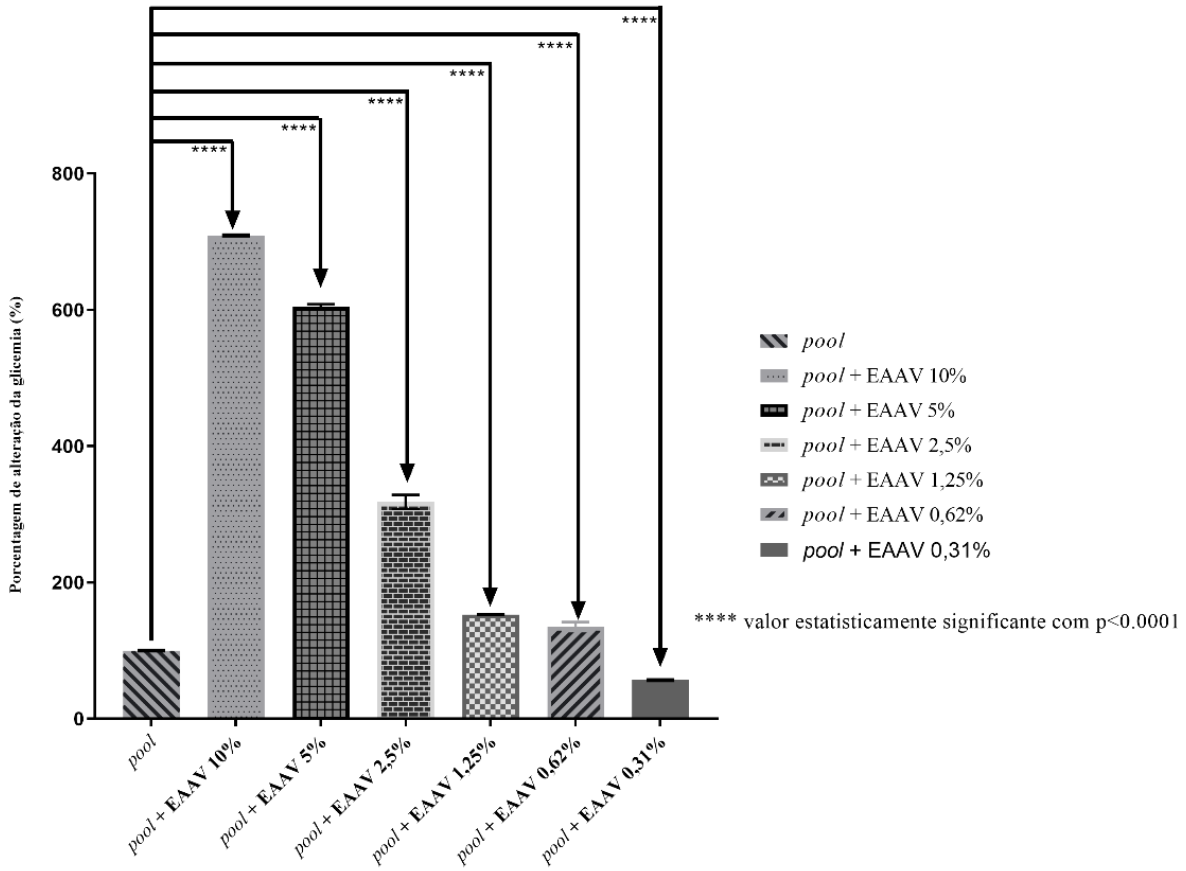
Os resultados obtidos foram expressos em média aritmética ± desvio padrão (DP) e submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via, seguindo-se pós teste de Bonferroni, utilizando o programa *GraphPadPrism* 7.0 onde os valores foram considerados significativos quando $p<0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o processo de preparação da dosagem glicêmica com a adição do extrato aquoso da *Aloe vera*, foi possível observar a olho nu alterações colorimétricas e precipitação do extrato em concentrações mais altas, esses efeito foi diminuindo visivelmente de forma proporcional a cada adição de concentrações menores do extrato, de forma que, quando realizada a leitura no espectrofotômetro, obteve-se resultados compatíveis a essa visualização macroscópica.

Após a obtenção desses valores em mg/dl foi analisado o valor em porcentagem correspondem ao extrato da *Aloe vera*, afim de observar a interferência da babosa em cada concentração, para que se tenha um resultado mais preciso e de fácil entendimento, esses valores estão representados no Gráfico 1.

Gráfico 1: Valor da porcentagem de alterações da glicemia com adição do Extrato Aquoso da *Aloe vera* (EAAV).



Fonte: Próprio do autor.

Após a obtenção dos resultados das porcentagens foi possível observar o aumento no valor da glicemia dosado nas diferentes concentrações do extrato aquoso da *Aloe vera* (EAAV), onde o aumento da dosagem apresentou-se de maneira proporcional ao valor das concentrações,

ou seja, quanto maior a concentração, maior o valor da absorbância obtida, isso pode ser explicada em decorrência a interferência da cor e das precipitações obtidas em consequência a adição do extrato.

Moura (2014) explica a relação entre a densidade da cor e o valor da a absorbância. Deste modo a absorbância é proporcional a concentração do analito absorvente, sendo linear o comprimento da onda emitida, a espessura transmitida pelo feixe luminoso e dos demais fatores, deste modo compreende-se, que existe uma relação entre a densidade ótica e concentração.

O resultado do presente estudo corrobora com a descrição do autor mencionado acima, uma vez que ao realizar os controles de diluição, é perceptível que a interferência ocorreu realmente devido a presença do extrato.

Ainda assim pode-se verificar que na concentração do EAAV 0,31% representada no gráfico, houve a diminuição do valor da glicemia plasmática *in vitro*, entretanto no controle de diluição, essa diminuição é semelhante, não sendo possível por meio desse método, afirmar que o extrato foi capaz de diminuir o valor da glicemia *in vitro,* tornando-se necessários estudos mais aprofundados e mais sofisticados principalmente por meio de outras metodologias. Nessa perspectiva, acredita-se que por meio de metodologias de automação, poderia ser possível avaliar concentrações menores do extrato para confirmar se há ou não diminuição dos valores, já que por meio da leitura em espectrofotômetro, essa foi a menor leitura possível.

A metodologia de química seca, que conta com equipamentos de última geração capaz de desenvolver a dosagem glicêmica totalmente automatizada, baseia-se na reflectometria, essa metodologia destaca-se pela suas múltiplas vantagens, dentre elas a capacidade avaliar pequenas quantidades de volumes e essa amostra pode ser soro, plasma, líquido cefalorraquidiano ou urina, a utilização desses equipamentos os erros podem ser minimizadas e a confiabilidade dos resultados maiores que os métodos manuais (RODRIGUES, 2022).

Com os equipamentos automatizados e semi- automatizados será possível obter resultados com menores concentrações e mais precisão, de modo a trazer mais segurança e estabilidade para a pesquisa, afim de proporcionar soluções terapêuticas subsequentes. Sousa (2022) defende o fato de que a automação laboratorial traz diversos benefícios na rotina laboratorial, assim como no âmbito da pesquisa, trazendo estudos mais qualificados e confiáveis para o tratamento de enfermidades populacional.

Ainda assim pesquisas feitas de estudos *in vitro* e *in vivo* mostram que as propriedades da *Aloe vera* interferem na glicemia plasmática, sua fração solúvel em água possui atividades redutoras de glicose sendo alguns capazes de modular a expressão do mRNA do transportador de glicose. Pesquisas feitas mostram ainda a comparação do efeito da babosa (*Aloe vera*) com

o do medicamento Metformina sendo mais eficaz a utilização do extrato da planta, pois foi possível perceber o aumento da transcrição do GLUT-4, de modo a fornecer uma melhor absorção da glicose pelos tecidos tratados no estudo, no entanto, ainda se torna importante a pratica de pesquisas relacionadas ao tema (FILHO et al.,2022).

Em paralelo a isso fortifica a importância das pesquisas referente ao uso das plantas medicinais ainda que muito utilizadas tem baixa frequência quando se trata de tratamento contra a DM, no entanto, é relevante as pesquisas acercas desses mecanismos, de modo, a favorecer melhoras nos tratamentos já existentes no âmbito do sistema único de saúde (SUS) para que assim possa somar e melhorar a atuação dos profissionais de saúde na área, qualificando-os para o compartilhamento desses saberes, principalmente no setor primário à saúde. Esse aprofundamento nas ações terapêuticas das plantas torna-se importante pela necessidade das evidências científicas sobre as ações que causam no metabolismo humano, assim como, os seus efeitos colaterais e interações com os medicamentos alopáticos (GIMARÃES, 2022).

4 CONCLUSÃO

Diante das análises realizadas pode-se observar que nas concentrações, 10%; 5%; 2,5% 1,25% e 0,62% houve interferência na análise, visto que os valores da dosagem aumentaram significamente, apesar de possuir substâncias antioxidantes no extrato, isso pode ser explicado em consequência do mecanismo de interferência presente na planta constituída pela composição química, desta forma pode-se entender que a diminuição da concentração traz consigo a diminuição das interferências do mecanismo da planta resultando na ação hipoglicemiante observada na concentração 0,31%.

Assim cria-se uma perspectiva acerca da continuidade dessa pesquisa, de modo a buscar através de métodos automatizados a comprovação e confiabilidade da ação hipoglicemiante do extrato aquoso da *Aloe vera* na glicemia plasmática, e assim com os resultados obtidos proporcionar para a população alternativas mais naturais no tratamento do Diabetes *Mellitus*.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, E. T. S et al. **Efeito hipoglicemiante da *Aloe vera* (babosa) no manejo clínico da diabetes mellitus**, I congresso internacional da diversidade do semiárido, 2016.

BRAULIO, A. K. D.O., et al. **Perfil fitossociologico e fenológico para fins de conservação das plantas medicinais nativas da apa chapada do Araripe.** V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIII Semana de Iniciação Científica, 2020.

FILHO, J. S.B et al. Propriedades farmacológicas da Aloe vera: uma revisão integrativa. **Research, Society and development**, v. 11, n. 3, 2022.

GIMARÃES, B. M. **O autocuidado e o uso de plantas medicinais por idosos com diabetes mellitus residentes da área rural de teófilo Otoni-Mg**. Dissertação (Pós- Graduação em Tecnologia, Ambiente e Sociedade)-Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – Campus do Mucuri, 2022.

MARTINS, J. M. **Uso da babosa (*Aloe vera*) na reparação de feridas abertas provocadas cirurgicamente em cães. Monografia (Graduação em medicina veterinária) -** Universidade Federal De Campina Grande Centro De Saúde E Tecnologia Rural Campus De Patos-Pb, Patos- Pb, 2010.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**, 3o ed. Fortaleza. UFC, 2009.

MOURA, D. S.D. et al. **Bioquímica – LCB 208, Roteiro De Aulas Práticas, Piracicaba** – SP, 2014.

NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Revista Brasileira de Ciências farmacêuticas**, V. 41, N. 2, 2005.

Organização Mundial da Saúde (2009). Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/diabetes/.

RODRIGUES, M. L. P. **Importância da automação no laboratório de análises clínicas, com ênfase nos exames bioquímicos.** TCC (Bacharel em Química com habilitação em Química) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Química, Fortaleza, 2022

SAMPAIO. K, C. A**. Avaliação da interferência in vitro da quercetina na determinação da glicemia plasmática.** Trabalho de Conclusão de curso, Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, 2022.

SOUSA, D. D. R; NETO, A. P. F. **Sistema de automação no controle de desperdício de água dos laboratórios da UFERSA,** Trabalho de Conclusão de Curso, Graduanda do curso Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia, Universidade Federal Rural Do Semiárido – UFERSA, Mossoró, 2022.

SOUZA, D. L. **Plantas medicinais como alternativa no controle de diabetes mellitus tipo 2.** TCC: (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, Rio Verde- Go, 2022.