

Avaliação da interferência *in vitro* do extrato seco de berinjela (*Solanum melongena* L.) em testes laboratoriais*

► E. G. Brietzig¹, M. B. Falkenberg², S. F. T. Freitas³

-
1. Mestranda do curso de Pós-Graduação em Farmácia da UFSC.
 2. Professora orientadora do curso de Pós-Graduação em Farmácia da UFSC.
 3. Professor do Departamento de Saúde Pública da UFSC.

* Programa de Pós-Graduação em Farmácia da UFSC/SC.

Este trabajo ha sido publicado en la Revista Brasileira de Análises Clínicas 2004; 36 (2): 105-10.

Resumo

Cápsulas com berinjela têm sido usadas para reduzir colesterol. Estudos em animais apontaram significativa redução do colesterol total ou do LDL-colesterol, contudo em humanos os resultados não são conclusivos. Dada a presença na berinjela de antocianinas, de comprovada atividade antioxidante, seria possível que estes interferirem em determinações laboratoriais. Avaliou-se a interferência *in vitro* nas determinações de glicose, colesterol, triglicerídeos e ácido úrico. Os testes foram realizados com extrato seco de berinjela comercial, adicionado a soro calibrador comercial, em concentrações supraterapêuticas, e depois em concentrações terapêuticas para os analitos que apresentaram interferência significativa na concentração supraterapêutica. Como controles utilizou-se soro puro e adicionado de amido, quercetina ou solvente. No soro com extrato não tratado foram detectadas interferências significativas nas determinações de glicose, triglicerídeos e AST em concentrações supraterapêuticas e para glicose em concentrações terapêuticas. Noutra etapa, testes foram feitos com o conteúdo das cápsulas após simulação de digestão gástrica, também nas duas concentrações. Na concentração supraterapêutica, detectou-se interferência em todos os analitos e na terapêutica apenas para glicose. Alguns controles apresentaram interferências não esperadas. Os resultados sugerem um potencial de interferência analítica para o extrato de comercial de berinjela, sendo necessários estudos adicionais com outras preparações para uma conclusão definitiva.

Unitermos: berinjela * interferência * testes laboratoriais * antioxidantes.

Como consecuencia de la política de integración de la Confederación Latinoamericana de Bioquímica Clínica –COLABIOCLI– en el área científica, el Comité de Redacción de *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* ha concretado la iniciativa creando la Sección Permanente Latinoamericana, con los trabajos más relevantes de las distintas publicaciones de la región. La reimpresión de los mismos ha sido autorizada por el Consejo Editorial de las respectivas publicaciones oficiales.

Summary

EVALUATION OF THE IN VITRO INTERFERENCE FROM DRY EGGPLANT EXTRACT (*SOLANUM MELONGENA* L.) ON LABORATORY TESTS

Eggplant capsules have been used by the population to reduce cholesterol. Studies with animals indicated significant reduction in total cholesterol or LDL cholesterol; however in humans the results are not conclusive. Due to the presence of anthocyanins with confirmed antioxidant activity in the eggplant, interference might be possible in the laboratory tests. In vitro interference has been analysed on glucose, cholesterol, triglycerids and uric acid determinations. The tests have been performed with commercial dry eggplant extract, added to the commercial calibrator serum in suprathereapeutic concentrations and after that, in therapeutic concentrations for the analytes that presented significant interference in its suprathereapeutic concentration. As a control, pure serum was used, and then starch, quercetin or solven were added. In the serum with non treated extract, significant interferences have been detected on glucose, triglycerids and AST determinations in suprathereapeutic concentrations and in therapeutic concentrations on glucose. In another stage, were performed with the capsules content after a gastric digestion simulation, also in both concentrations. In the suprathereapeutic concentration, interference in all analytes was detected, and in the therapeutic concentration, only on glucose. Some controls showed unexpected interferences. The results suggest an analytic interference potential for the eggplant commercial extract needing additional studies with other preparations for a definitive conclusion.

Key-words: *eggplant * interference* laboratorial tests* antioxidants.*

Introdução

O fruto da espécie *Solanum melongena* L., conhecida como berinjela, é largamente consumido no Brasil. Também vem sendo utilizado na medicina popular com finalidade de diminuir o colesterol, embora os estudos de avaliação destes efeitos em humanos tenham sido inconclusivos (1) (2). A pele da berinjela contém flavonóides, sendo o principal, uma antocianina, a nasunina³, cuja potente atividade antioxidante já foi comprovada por diversos estudos (3-5).

Em princípio, muitos exames laboratoriais são determinações químicas, que dependendo do método empregado, podem sofrer interferência analítica, em maior ou menor grau, de um número bastante grande de substâncias que, estando presentes no meio reacional junto com a substância de interesse, reagem interferindo na determinação (6-8).

Interferência analítica pode ser definida como a influência de um fármaco ou de seus metabólitos na análise de um componente em algum dos estágios do processo analítico (9). Um exemplo clássico deste tipo de interferência é o da vitamina C na reação de TRINDER que é hoje um método usual para a determinação de glicose, colesterol, triglicerídeos e ácido úrico (10).

O método de TRINDER (11) envolve reações de óxido-redução, ou seja, numa das etapas produz-se peróxido de hidrogênio que, em seguida, oxida um cromógeno

formando um composto corado, que pode ser medido espectrofotometricamente, sendo a leitura obtida proporcional ao analito em teste. A interferência da vitamina C nestas reações tem sido explicada por sua atividade antioxidante que pode ser responsável pelo consumo de componentes da reação, como, por exemplo, pela redução do peróxido de hidrogênio antes da sua reação com o cromógeno; ou por reação direta com o produto corado, reduzindo-o a um composto que não absorva cor no visível (12) (13). O uso de acopladores nesta reação possibilitou uma maior resistência desta aos efeitos interferentes de antioxidantes (14), mas não eliminou o problema, como pode ser visto pelos resultados de estudos de interferência com vitamina C na reação de TRINDER, após o advento do uso destes acopladores (15-17).

NOROOZI e col. (18) demonstraram que, em concentrações equimolares, muitos flavonóides apresentam capacidade antioxidante superior a da vitamina C. Não existem estudos sobre a biodisponibilidade dos flavonóides da berinjela, porém diversos trabalhos permitiram concluir que flavonóides, inclusive antocianinas, são absorvidos, metabolizados ou simplesmente excretados inalterados pelo homem (19-23). CAO e col. (24) comprovaram o aumento da atividade antioxidante do soro de indivíduos após o consumo de alimentos ricos em antocianinas. Os resultados foram similares aos obtidos após a ingestão de vitamina C, usada no estudo para comparação. Assim, concluiu-se que

flavonóides alteram a capacidade antioxidante do sangue à semelhança da vitamina C.

Não foram encontrados estudos de avaliação de interferência em exames produzida pelo uso de plantas ricas em antioxidantes. Porém, uma vez que berinjela, sobretudo na forma de extrato seco encapsulado, não costuma ser considerada como alimento pela população em geral, é possível que esta seja consumida pelo paciente durante o período de jejum que deve anteceder a coleta das amostras, vindo a produzir interferência em determinações laboratoriais. Por esta razão, pretendeu-se testar o potencial de interferência do extrato seco de berinjela.

Como não existe protocolo padrão para este tipo de testes com extratos de plantas, estes foram realizados com base num protocolo para fármacos proposto por GALTEAU & SIEST (7). Este protocolo preconiza que testes de interferência devem ser realizados primeiramente *in vitro* – pois o conhecimento prévio da interferência analítica deve anteceder os estudos dos efeitos biológicos -, e com concentrações elevadas da substância em teste (dose tóxica ou supraterapêutica). Segundo este protocolo, quando detectada interferência na concentração supraterapêutica, um experimento de validação deve ser efetuado com a concentração terapêutica do fármaco. Além disso, recomenda que a concentração do analito no “pool” de soro em teste seja próxima ao nível que exigiria uma decisão clínica do médico, ou seja, próxima ou fora dos limites de referência.

Material e métodos

Foi utilizada uma marca comercial de cápsulas à base de extrato seco de berinjela (LABORATÓRIO CATTARINENSE SA), amido de milho comercial (QUIMIDROL), padrão de quercetina (SIGMA), soros calibradores comerciais, em nível patológico, liofilizados, de origem bovina (BIOBRÁS SA) e reagentes para determinações bioquímicas da marca BIOBRÁS SA. Os testes foram realizados em aparelho de automação COBAS MIRA PLUS (ROCHE DIAGNOSTICS) segundo recomendações do fabricante dos reagentes.

A concentração de fenóis totais do extrato seco comercial de berinjela foi determinada segundo método de SINGLETON & ROSSI (25).

Foi testado o efeito interferente do extrato seco de berinjela inicialmente em concentrações supraterapêuticas (1ª e 2ª etapas) e após, em concentrações terapêuticas (3ª e 4ª etapas) para os analitos que apresentaram resultados significativos nas primeiras etapas. A 1ª e a 3ª etapa foram realizadas com extrato seco diretamente adicionado ao soro. Já na 2ª e 4ª etapas, o extrato seco foi previamente submetido à simulação *in vitro* do processo de digestão antes de ser adicionado ao soro.

Em todas as etapas foram preparados também al-

guns controles: a) soro puro (sem adição de substâncias), para obtenção dos valores basais; b) de quercetina, para comparação do efeito interferente de um flavonóide isolado; c) de amido, para investigação do efeito interferente deste que esta presente como excipiente nas cápsulas com extrato seco de berinjela; d) de etanol/salina, a quercetina foi previamente dissolvida em etanol e diluída em salina antes de ser adicionada ao soro (350 µL da solução foram adicionados aos 10 mL de soro), este controle teve o objetivo de compensar a diluição da amostra e/ou de monitorar uma eventual interferência do etanol presente na solução de quercetina adicionada ao soro.

Embora a mesma marca de soro calibrador tenha sido utilizada em todas as etapas, não foi possível conseguir o mesmo lote utilizado na primeira para as demais. Isto ocorreu devido a grande quantidade de soro necessária para a diluição dos extratos para a obtenção das concentrações terapêuticas, uma vez que para se garantir a acurácia necessária na pesagem da pequena quantidade de extrato seco a ser acrescentada ao soro, maiores volumes deste foram requeridos. Assim, a primeira etapa foi realizada com um lote de soro controle (SP1), para as outras três, utilizaram-se outros lotes do soro controle - o mesmo para a segunda e terceira etapa (SP2) e um terceiro para a quarta etapa (SP3).

Para o preparo das amostras, o soro calibrador na 1ª etapa foi fracionado em alíquotas, e adicionado de quercetina (SQ_{sp}), extrato seco (SE_{sp}) ou amido (SA_{sp}), sendo preparados também como controles: um de quercetina (CQ_{sp}), soro puro (SP1). Na 2ª etapa, foram testados soro com extrato seco tratado (SET_{sp}) e como controle: soro puro (SP2). Já na 3ª etapa, as alíquotas de soro (SP2) foram adicionadas de quercetina (SQ_p), extrato seco (SE_p) ou amido (SA_p), sendo preparados controles de quercetina (CQ_p) e soro puro (SP2). Para a 4ª etapa, adicionou-se ao soro (SP3) extrato seco tratado (SET_p) e foi utilizado como controle soro puro (SP3).

As concentrações consideradas neste trabalho como “terapêuticas” para a quercetina (52 nM) foram obtidas a partir da literatura (26). Considerando, entretanto, a inexistência de estudos farmacocinéticos em relação a extratos de berinjela, tentou-se estimar a partir da dose terapêutica indicada pelo fabricante das cápsulas (640 mg/dose) e considerando-se absorção rápida e total dos componentes e a volemia média de um indivíduo adulto (5 litros), a concentração que se poderia atingir no sangue. Esta concentração foi estimada em 0,128 mg/mL e a partir deste valor foram calculadas as quantidades de extrato que seriam adicionadas às amostras de soro para obter concentrações aproximadas àquelas consideradas como terapêuticas. Para as concentrações supraterapêuticas, foi utilizado o fator 10, conforme preconiza GALTEAU & SIEST (7).

Para a preparação das amostras com dose supraterapêutica das substâncias em teste obteve-se uma con-

centração final de 12,8 mg de extrato seco /10 mL de plasma (SE_{st}); e de 1,57 µg de quercetina /10 mL de plasma (SQ_{st}) e, no caso das com dose terapêutica; 1,28 mg de extrato seco /10 mL de plasma (SE_p); e de 0,157 mg de quercetina /10 mL de plasma (SQ_p). As mesmas concentrações do extrato seco foram utilizadas para na preparação do controle com amido.

A preparação do SET_{st} foi baseada na metodologia proposta por GIL-IZQUIERDO e col. (27). Foram utilizados 640 mg de extrato seco (uma dose) diluídos em 100 mL de água. Para mimetizar a digestão ácida (gástrica), o extrato aquoso obtido foi acidificado com ácido clorídrico até pH 2,0 e, em seguida, incubado em banho-maria 37 °C com agitação por duas horas. Para mimetizar a digestão básica (intestino delgado), ao extrato aquoso, que permaneceu no banho-maria, nas mesmas condições da etapa anterior, foi adicionado aos poucos (durante 30 minutos), bicarbonato de sódio até alcançar-se o pH 5,0. O extrato alcalinizado foi mantido no banho-maria por mais duas horas. Este extrato foi liofilizado e pesado (170 mg), sendo que 17 mg foram dissolvidos em 50 mL de soro calibrador. O SET_t foi preparado diluindo-se o SET_{st} na proporção de 1:10 com o soro calibrador puro (SP2).

As amostras de soro foram preparadas um dia antes dos testes e refrigeradas até a execução dos mesmos. Aquelas que continham extrato seco ou amido foram previamente centrifugadas por 5 minutos em 4000 r.p.m. Todas as amostras foram transferidas para caçapas de amostra para aparelho de automação COBAS MIRA PLUS, sendo que foram preparadas oito caçapas para cada uma das amostras em todas as quatro etapas de testes.

Os testes bioquímicos foram realizados em triplicata em cada uma das caçapas, totalizando 24 testes por amostra, por analito e por etapa. Os analitos dosados por etapa e por amostras foram os seguintes: a) glicose, colesterol total, ácido úrico e triglicerídeos nas amostras SP1, SE_{st} , SA_{st} , SQ_{st} , CQ_{st} e BA_{st} na 1ª etapa; b) glicose, colesterol total, ácido úrico e triglicerídeos nas amostras SP2 e SET_{st} na 2ª etapa; c) glicose nas amostras SP2, SE_p , SA_p , SQ_p e CQ_p na 3ª etapa e; d) ácido úrico, glicose e triglicerídeos nas amostras SP3 e SET_p na 4ª etapa.

Os resultados obtidos em cada uma das etapas foram submetidos à Análise de Variância – ANOVA, com confirmação pelo Teste de Scheffé, em alguns casos, pelo Teste *t* de Student complementado pelo teste de Mann-Whitney.

Resultados e Discussão

A concentração de fenóis totais obtida para o extrato de berinjela foi de 178,6 µM. Uma vez confirmada a presença de substâncias fenólicas no extrato seco, os testes de interferência foram realizados.

Na 1ª etapa de testes a análise da variância foi realizada comparando os vários grupos em relação a cada analito. A maior significância estatística foi obtida para a glicose (Tabela I), sendo que houve diferença significativa entre todos os grupos, com um valor de F correspondente a 343,21 ($p < 0,0001$). Para confirmar a significância, foi realizado o teste de Scheffé (Tabela II), que também apontou significância estatística ($p < 0,01$) entre todos os grupos.

Tabela I. Resultados do teste de Análise de Variância, para comparação dos resultados médios de glicose obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Fonte de Variação	S.Q.	G.L.	Q.M	F
Entre grupos	12705.77	4	3176.44	343.21 ($p < 0.0001$)
Dentro de grupos	323.93	35	9.255	
Total	13029.7	39		

Tabela II. Comparações individuais pelo teste de Scheffé ($p < 0,01$) para os resultados médios de glicose obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Grupos	Média
Soro c/ extrato seco (SE st)	319.3
Soro c/ amido (SA st)	310.9
Soro puro (SP1)	293.6
Soro c/ EtOH quercetina (SQ st)	283.0
Soro c/ EtOH salina (CQ st)	270.5

Obs.: Houve diferença estatística entre todos os grupos.

A adição ao soro, tanto de amido (SA), como de extrato seco não tratado (SE) levaram a uma interferência positiva para este analito, sendo que essa interferência foi estatisticamente maior para o extrato seco que para o amido.

Já a adição ao soro de quercetina (SQ) ou da mistura etanol/salina (CQ) provocou uma interferência negativa em relação ao soro puro (SP1). A diferença em relação à concentração determinada de glicose entre o soro adicionado de quercetina e seu controle também foi estatisticamente significativa, sendo a interferência maior para o controle que para a quercetina. Considerando a presença de flavonóides no extrato de berinjela, uma interferência negativa seria esperada já que, conforme a literatura, antioxidantes podem interferir por vários mecanismos em reações de óxido-redução diminuindo a concentração do produto corado (o qual é proporcional à concentração do analito em teste). A interferência positiva encontrada para o extrato seco poderia ser explicada, pelo menos em parte, pela presença de amido que pode ser hidrolisado pela amilase sérica, levando à formação de glicose como um dos produtos (28).

A interferência negativa verificada para a solução de quercetina adicionada ao soro poderia ser explicada pelo seu potencial antioxidante, entretanto a interferência verificada para o controle (CQ) foi maior do que a da quercetina (SQ). Isto indica que a interferência provocada pela mistura etanol/salina (1:25, v/v), usada como veículo para o flavonóide, superou a interferência da quercetina propriamente dita. Para a preparação das amostras SQ e CQ, houve uma pequena diluição da amostra de soro original, já que 10,0 mL de soro foram adicionados de 0,35 mL de solução de quercetina em etanol/salina ou do veículo. A variação percentual no teor de glicose entre SP1 e SQ foi de aproximadamente 3,7% enquanto entre SP1 e CQ foi de 8,5%. O fator de diluição do soro foi de 3,5%, de modo que apenas a diluição da amostra não explicaria o efeito interferente verificado em CQ. Uma possibilidade seria do efeito ser causado pela presença de etanol, que segundo HOLME & PECK (29) pode reagir com o peróxido de hidrogênio, consumindo-o na produção de acetaldeído e água.

Em relação ao colesterol, a análise de variância apresentou menor significância estatística (Tabela III), sendo que na confirmação pelo teste de Scheffé (Tabela IV), encontrou-se equivalência estatística entre os grupos SA, SE, SP1 e CQ, além de equivalência estatística entre os três últimos e SQ. Em outras palavras, apenas o soro adicionado de quercetina (SQ) e o soro adicionado de amido (SA) apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) nesse teste.

Tabela III. Resultados do teste de Análise de Variância, para comparação dos resultados médios de colesterol obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Fonte de Variação	S.Q.	G.L.	Q.M	F
Entre grupos	1093.37	4	273.34	6.00 ($p=0.0009$)
Dentro de grupos	1594.10	35	45.546	
Total	2687.47	39		

Tabela IV. Comparações individuais pelo teste de Scheffé ($p < 0,05$) para os resultados médios de colesterol obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Grupos	Média
Soro c/ amido (SA st)	252.0
Soro c/ extrato seco (SE st)	251.8
Soro puro (SP1)	247.4
Soro c/ EtOH salina (CQ st)	242.5
Soro c/ EtOH quercetina (SQ st)	238.6

Obs.: As colunas indicam equivalência estatística entre grupos.

Em relação ao ácido úrico, a análise de variância (Tabela V) indicou diferença entre os grupos, com valor de F igual a 84,64 ($p < 0,0001$). A confirmação pelo teste de Scheffé (Tabela 6) apontou equivalência estatística entre SA e SE, além de equivalência entre SE e SP1. Desta forma, comprovaram-se diferenças estatisticamente significativas entre a amostra de soro patológico SP1 e as amostras adicionadas de amido (SA), quercetina (SQ) e o controle da quercetina (CQ). O soro adicionado de quercetina (SQ) e seu controle CQ também foram significativamente diferentes entre si. Neste ensaio, o soro adicionado de extrato (SE) foi o único grupo experimental que não se diferenciou estatisticamente de SP1. Em relação à interferência negativa verificada para a quercetina e a mistura etanol/ salina, o efeito da diluição (3,5%) poderia explicar a redução do teor em SQ (2,9% menor que SP1), mas não em CQ (5,6% menor que SP1). Novamente poderíamos supor que o efeito poderia ter sido produzido pelo etanol.

Tabela V. Resultados do teste de Análise de Variância, para comparação dos resultados médios de ácido úrico obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Fonte de Variação	S.Q.	G.L.	Q.M	F
Entre grupos	4.7759	4	1.194	84.64 ($p < 0.0001$)
Dentro de grupos	0.4937	35	0.00141	
Total	5.2697	39		

Tabela VI. Comparações individuais pelo teste de Scheffé ($p < 0,01$) para os resultados médios de ácido úrico obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Grupos	Média
Soro c/ amido (SA st)	13.12
Soro c/ extrato seco (SE st)	12.97
Soro puro (SP1)	12.85
Soro c/ EtOH quercetina (SQst)	12.49
Soro c/ EtOH salina (CQst)	12.17

Obs.: As colunas indicam equivalência estatística entre grupos.

Finalmente, para os triglicerídeos, a análise de variância (Tabela VII) também apontou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, sendo que pelo teste de Scheffé (Tabela VIII) comprovou-se que o soro calibrador patológico (SP1) diferiu significativamente de todos os demais grupos, enquanto para SA e SE, bem como SQ e CQ entre si, verificou-se equivalência estatística.

Tabela VII. Resultados do teste de Análise de Variância, para comparação dos resultados médios de triglicerídeos obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Fonte de Variação	S.Q.	G.L.	Q.M	F
Entre grupos	2805.551	4	701.3878	90.54 ($p < 0.0001$)
Dentro de grupos	271.1256	35	7.7464	
Total	3076.677	39		

Na determinação deste analito, tanto a adição de extrato de berinjela, como de amido e de quercetina levaram a interferências estatisticamente significativas. Novamente, as interferências foram positivas para o extrato seco e o amido e negativas para a quercetina e seu controle. Em relação a SP1, a adição de quercetina e etanol/salina apresentaram diminuição na concentração de triglicerídeos da ordem de 4,0 e 4,2% respectivamente, ou seja, um pouco maior que o fator de diluição (3,5%).

Tabela VIII. Comparações individuais pelo teste de Scheffé ($p < 0,01$) para os resultados médios de triglicerídeos obtidos, para os cinco grupos experimentais na primeira etapa dos testes de interferência.

Grupos	Média
Soro c/ amido (SA st)	279.24
Soro c/ extrato seco (SE st)	279.12
Soro puro (SP1)	271.23
Soro c/ EtOH quercetina (SQst)	260.79
Soro c/ EtOH salina (CQst)	260.21

Obs.: As colunas indicam equivalência estatística entre grupos.

Na 2ª etapa, foram testadas amostras de soro adicionadas de extrato tratado (simulação de digestão gástrica e posterior liofilização). A análise estatística dos dados (Tabela IX) foi realizada pelo teste *t* e, no caso do colesterol, complementada pelo teste de Mann-Whitney.

Nessa etapa de testes, as diferenças foram estatisticamente significativas para glicose, colesterol, ácido

úrico e triglicerídeos. Para o colesterol, pela variabilidade verificada, o programa estatístico utilizado sugeriu confirmação pelo teste de Mann-Whitney, cujo resultado ($U = 12,5$ e $U' = 62,5$) corroborou a significância estatística da diferença entre o soro tratado (SET) e o controle SP2 ($p = 0,0283$). Entretanto, esta diferença não tem significância prática, já que pelo coeficiente de variação analítica para as dosagens de colesterol, só podem ser considerados diferentes resultados com diferença superior a 10% (30) e as diferenças verificadas foram inferiores a 2%.

Para a glicose, tal como para o extrato não tratado, verificou-se interferência positiva significativa. No tratamento realizado simulando a digestão gástrica, as condições experimentais podem ter propiciado hidrólise ácida do amido, dando como um dos produtos desta hidrólise a glicose. Além disso, a hidrólise do amido pode também ter ocorrido pela ação da amilase sérica (28). É possível que um destes mecanismos tenha contribuído para o aumento nas concentrações de glicose que foram detectadas em relação ao soro calibrador SP2.

Para o ácido úrico no soro tratado, houve interferência negativa, estatisticamente significativa, enquanto para o extrato não tratado a interferência não foi significativa na confirmação pelo teste de Scheffé. A simulação de digestão gástrica deve ter levado a hidrólise também de outras substâncias, além do amido, de modo que os produtos formados poderiam: a) ter sido responsáveis pela inibição de enzimas (uricase ou peroxidase) envolvidas no doseamento; b) ter reagido com o peróxido de hidrogênio nas condições do ensaio, diminuindo a concentração de quinonimina formada, c) desestabilizar o cromógeno formado. Estas hipóteses são aquelas citadas na literatura como possibilidades mais plausíveis de interferência analítica para o ácido ascórbico em reações envolvendo óxido-redução (12-15). De acordo com SEERAM & NAIR (31), antocianidinas (agliconas) têm maior atividade antioxidante que suas respectivas antocianinas (heterosídeos). Assim, se considerarmos a possibilidade da nasunina ter sofrido hidrólise, o que pode ter elevado sua atividade antioxidante, podemos explicar os resultados obtidos. Além disso, estudos, como o de SILVA e col. (17) mostram que entre os analitos dosados pela

Tabela IX. Comparação dos valores encontrados no teste *t* para os diferentes analitos no soro puro (SP2) e no soro adicionado de extrato de berinjela submetido a tratamento.

Analito	Concentração determinada no soro tratado	Concentração determinada no soro (SP2)	Valor do teste	<i>p</i> significância para $p < 0,05$
Colesterol	178,75	182,00	2,66	0,0186
Glicose	237,30	213,90	19,34	< 0,0001
Ácido úrico	8,20	8,85	3,59	0,030
Triglicerídeos	201,00	193,50	3,35	0,0047

reação de TRINDER, o ácido úrico parece ser mais susceptível aos efeitos de interferência de antioxidantes, o que explicaria a não observação desta interferência nos outros analitos.

Para os triglicerídeos no soro tratado houve interferência positiva, estatisticamente significativa, da mesma forma que para o extrato não tratado. Em termos percentuais, a interferência foi maior para o extrato tratado (+3,9%) que para o não tratado (+2,9%), entretanto em ambos os casos, a significância clínica destas interferências é irrelevante com base na variação analítica que é de 9% (30).

Na 3ª etapa, avaliou-se a interferência de extrato de berinjela não tratado e quercetina em concentrações correspondentes, aproximadamente, àquelas que seriam encontradas pela ingestão de cápsulas de berinjela na dose indicada pelo fabricante ou alimentos ricos em quercetina.

Na 1ª etapa do teste, em concentrações supratrapêuticas, vários analitos apresentaram interferências estatisticamente significativas, mas em muitos casos, tais interferências analíticas ocorriam também para algum dos controles utilizados (amido ou controle de quercetina). Assim, não necessariamente essas interferências poderiam ser atribuídas a componentes da berinjela ou à própria quercetina.

Assim sendo, para a 3ª etapa testou-se apenas a potencial interferência do extrato seco não tratado ou da quercetina em "concentração terapêutica" na determinação da glicose, já que apenas para este analito a diferença entre o soro com extrato de berinjela não tratado e o soro puro foi superior a do soro com amido com relação ao soro puro.

A análise de variância (Tabela X) destes resultados apontou uma diferença estatística significativa entre os grupos testados, com um valor de $F = 18,30$ ($p < 0,0001$). A comparação dos resultados pelo teste de Scheffé (Tabela XI) confirmou equivalência entre SA e SE, bem como entre os demais grupos. Assim sendo, para o extrato seco de berinjela (não tratado), em concentração "terapêutica", houve interferência positiva significativa na determinação de glicose, sendo que interferência no mesmo nível foi comprovada também para o amido. Diferença desta ordem poderia ter significância prática, para pacientes cuja glicemia se encontrasse muito próxima aos limites de

Tabela X. Resultados do teste de Análise de Variância, para comparação dos resultados médios de glicose obtidos, para os cinco grupos experimentais da terceira etapa.

Fonte de Variação	S.Q.	G.L.	Q.M	F
Entre grupos	393,15	4	98,29	18,30 ($p < 0.0001$)
Dentro de grupos	187,93	35	5,37	
Total	581,08	39		

Tabela XI. Comparações individuais pelo teste de Scheffé ($p < 0,05$) para os resultados médios de glicose obtidos, para os cinco grupos experimentais da terceira etapa.

Grupos	Média
Soro c/ amido (SA t)	221,54
Soro c/ extrato seco (SE t)	221,04
Soro c/ EtOH salina (CQt)	217,08
Soro c/ EtOH quercetina (SQt)	214,83
Soro puro (SP2)	213,88

Obs.: As colunas indicam equivalência estatística entre grupos.

referência. Também neste caso, é provável que a interferência positiva verificada se deva à hidrólise do amido pela amilase contida na amostra de soro.

Para as amostras de soro adicionadas de quercetina, atingindo concentrações correspondentes àquelas consideradas terapêuticas, a determinação de glicose não apresentou valores diferentes estatisticamente do soro calibrador utilizado (SP2).

Na 4ª etapa, foram determinados glicose, ácido úrico e triglicerídeos no soro adicionado de extrato de berinjela tratado, em concentrações terapêuticas estimadas, e no soro patológico controle (SP3).

A determinação do colesterol não foi incluída nesta fase uma vez que a interferência analítica detectada em concentrações supratrapêuticas de extrato ($p < 0,05$) não apresentava significância prática. Porém, embora também não apresentasse significância clínica, a interferência verificada para os triglicerídeos foi estatisticamente mais relevante ($p < 0,01$) e então, decidiu-se incluir este analito nesta fase dos testes. A análise estatística dos resultados pelo teste t (Tabela XII)

Tabela XII. Comparação dos valores encontrados no teste t para os diferentes analitos no soro puro (SP3) e no soro adicionado de extrato de berinjela submetido a tratamento.

Analito	Concentração determinada no soro tratado	Concentração determinada no soro (SP2)	Valor do teste	p significância para $p < 0,05$
Glicose	206,29	203,83	2,16	0,036
Ácido úrico	12,28	12,17	1,06	0,294 (NS)
Triglicerídeos	169,08	168,04	1,38	0,174 (NS)

não apontou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, exceto para a glicose.

Considerando os resultados obtidos neste estudo, pode-se sugerir que o extrato seco de berinjela, embora tenha apresentado potencial de interferência analítica significativa em algumas determinações séricas, não se pode afirmar com certeza que este o seja sob o ponto de vista prático. Isto, porque, como vimos, as variações estatisticamente significativas que ocorreram principalmente nas concentrações “supraterapêuticas” estimadas, podem em alguns casos, estar dentro da faixa de variação analítica aceitável para os testes realizados (30).

Além disto, observa-se que a maioria dos resultados, mesmo estatisticamente diferentes entre si, não mudariam a atitude do médico com o paciente, uma vez que, do ponto de vista clínico, esses poderiam ser explicados pela variação biológica normal que ocorre nas concentrações das substâncias presentes no sangue. Uma exceção poderia ser na glicose da 3ª etapa, onde a interferência produzida pelo amido (adicionado ao soro em concentração terapêutica estimada) poderia provocar um erro que poderia prejudicar a interpretação de um resultado próximo aos limites de referência.

Porém, uma vez que as concentrações testadas foram apenas estimadas, não se conhecendo de fato os dados relacionados à farmacocinética dos extratos de berinjela, não podemos concluir de forma definitiva em relação ao potencial de interferência de seus componentes. Outro aspecto é o fato de termos utilizado apenas uma única dose, como base de cálculo, para a preparação das amostras acrescentadas de extrato seco, não se levando em consideração a possibilidade de efeitos cumulativos do uso contínuo do produto.

Também, nada pode garantir que as reações de biotransformação, que podem ocorrer *in vivo* nos indivíduos que ingerem extrato seco de berinjela, ou mesmo a fruta *in natura*, não contribuam para o aumento do potencial antioxidante dos componentes destes materiais e, portanto, ampliem a possibilidade de ocorrência de efeitos de interferência em exames.

De qualquer modo, para concluir de forma mais definitiva quanto ao potencial de interferência analítica dos extratos de berinjela, seriam necessários estudos *ex vivo* com amostras de sangue de pacientes após ingestão de uma ou mais doses dos referidos extratos. Seria igualmente interessante testar outros tipos de preparações à base de berinjela, assim como alguns de seus constituintes isoladamente.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório Catarinense, à Rede de Farmácias do SESI, à Farmácia Botica do Vale, à Farah Diagnostics, à Biobrás S. A. e ao Hospital Municipal São José de Joinville/SC.

Referências bibliográficas

1. Kakuda CM, Aoki L, Ferrari MA, Lotierzo PH, Caramelli B. Influence of an eggplant and orange juice on lipids and fibrinogen. *Atherosclerosis* 1997; 134:325.
2. Guimaraes PR, Galvão AMP, Batista CM, Azevedo GS, Oliveira RD, Lamounier RP et al. Eggplant (*Solanum melongena*) infusion has a modest and transitory effect on hypercholesterolemic subjects. *Braz J Med Biol Res* 2000; 33, (9): 1027-36.
3. Noda Y, Kneyuki T, Igarashi K, Mori A, Packer L. Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant peels. *Toxicology* 2000; 148: 119-23.
4. Igarashi K, Yoshida T, Suzuki E. Antioxidative activities of nasunin, isolated from Chouja-nasu (little eggplant, *Solanum melongena* Chouja), and some other anthocyanins were studied by measuring their inhibitory effect on carotene oxidn. induced by the linoleic acid-lipoxygenase system (carotene bleaching method) and on autoxidn. of linoleic acid. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 1993; 40: 138-43.
5. Sudheesh S, Sandhya C, Koshy AS, Vijayalakshmi NR. Antioxidant activity of flavonoids from *Solanum melongena*. *Phytother Res* 1999; 13 (5): 393-6.
6. Young DS, Pestaner LC, Gibberman V. Effects of drugs on clinical laboratory tests. *Clin Chem* 1975; 21 (5): 1D-432 D.
7. Galteau MM, Siest G. Drugs effects in clinical chemistry. Part 2, Guidelines for evaluation of analytical interference. IFCC: Document Stage 1, draft 4. *Ann Biol* 1984; 42 (2): 137-44.
8. Letellier G, Desjarlais F. Analytical interference of drugs in clinical chemistry: study of twenty drugs on seven different instruments. *Clin Biochem* 1985; 18: 345-51.
9. Siest G, Dawkins SJ, Galteau MM. Drug effects on clinical laboratory tests. *Pharm Biomed Anal* 1983; 1 (3): 38-42.
10. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 5th ed. Washington DC: AACC; 2000.
11. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann Clin Biochem* 1969; 6: 24-7.
12. Sharp P. Interference in glucose oxidase-peroxidase blood glucose methods. *Clin Chem* 1972; 40: 115-20.
13. Maguire GA, Price CP. Evidence for interference by ascorbate in the measurement of cerebrospinal fluid glucose by a kinetic glucose oxidase/peroxidase procedure. *Clin Chem* 1983; 10: 1810-2.
14. White-Stevens RH, Stover LR. Interference by ascorbic acid in test systems involving peroxidase. II. Redox-coupled indicator systems. *Clin Chem* 1982; 28 (4): 589-95.
15. Freemantle J, Freemantle MJ, Badrick T. Ascorbate interference in common clinical assays performed on three analyzers. *Clin Chem* 1994; 40 (6): 950-1.

16. Pedrazzi AHP, Rodrigues ER, Zanardo Filho A. Ação redutora da vitamina C em bioquímica clínica. RBAC 1998; 30 (1): 5-6.
17. Silva E, Scharf ER, Martinello F, Luca DM, Amorin GR, Corradi et al. Efeito interferente do ácido ascórbico nas determinações de parâmetros bioquímicos séricos. RBAC 1999; 31 (3): 111-5.
18. Noroozi M, Angerson WJ, Lean ME. J. Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. Am J Clin Nutr 1998; 67: 1210-8.
19. Miyazawa T, Nakagawa K, Kudo M, Muraishi K, Someya K. Direct intestinal absorption of red fruit anthocyanins, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3,5-diglucoside, into rats and humans. J Agric Food Chem 1999; 47: 1083-91.
20. Cao G, Muccitelli HU, Sánchez-Moreno C, Prior RL. Anthocyanins are absorbed in glycosylated forms in elderly women: a pharmacokinetic study. Am J Clin Nutr 2001; 73 (5): 920-6.
21. Netzel M, Strass G, Janssen M, Bitsch I, Bitsch R. Bioactive anthocyanins detected in human urine after ingestion of blackcurrant juice. J Environ Pathol Toxicol Oncol 2001; 20 (2): 89-95.
22. Milbury PE, Cao G, Prior RL, Blumberg J. Bioavailability of elderberry anthocyanins. Mech Ageing Dev 2002; 123: 997-1006.
23. Nielsen SE, Freese R, Kleemola P, Mutanen M. Flavonoids in human urine as biomarkers for intake of fruits and vegetables. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2002; 11: 459-66.
24. Cao G, Russel RM, Lischner N, Prior RL. Serum antioxidant capacity is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women. J Nutr 1998; 128: 2383-90.
25. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic 1965; 16: 144-58.
26. Erlund I, Solaste ML, Alfthan, G, Rantala M, Kesäniemi YA, Aro A. Plasma concentration of the flavonoids hesperetin, narigenin and quercetin in human subjects following their habitual diets, and diets high or low in fruit and vegetables. Eur J Clin Nutr 2002; 56 (9): 891-8.
27. Gil-Izquierdo A, Gil MI, Ferreres F, Tomas-Barberan FA. In vitro availability of flavonoids and other phenolics in orange juice. J Agric Food Chem 2001; 49: 1035-41.
28. Campbell MK. Bioquímica. 3ª ed. São Paulo: Artmed; 2001. p. 428-31.
29. Holme DJ, Peck H. Analytical Biochemistry. 2th. New York: Logman Scientific Technical; 1993. p. 347.
30. LABTEST. Laboratório Clínico: usando controles no laboratório clínico. 3ª ed. Lagoa Santa: LABTEST diagnóstica; 1998. p. 12.
31. Seeram NP, Nair MG. Inhibition of lipid peroxidation and structure-activity-related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. J Agric Food Chem 2002; 50: 5308-12.