Avaliação do potencial antioxidante de extratos obtidos a partir dos frutos de quiabo (*Abelmoschus esculentus)* em modelo de hiperglicemia baseado em *Danio rerio*

Guilherme Araujo dos Santos[1], Levi Magalhaes Gurgel Macedo[2], Ana Paula Apolinário da Silva[3], João Xavier da Silva Neto[4] Maria Izabel Florindo Guedes[5], Bruno Bezerra da Silva[6]

[1] Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, e-mail: gui.araujo@aluno.uece.br
[2]Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, e-mail: magalhaes.macedo@aluno.uece.br
[3]Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, e-mail: paula.apolinario@aluno.uece.br
[4]Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, e-mail: xaviersn@live.com
[5]Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, e-mail: izabel.guedes@uece.br
[6]Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, e-mail: uno.bezerra@uece.br

RESUMO. O diabetes mellitus tipo 2 é uma doença crônica caracterizada por hiperglicemia persistente nos indivíduos afetados. Como consequência, acaba prejudicando diversos mecanismos metabólicos e resultando em produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio. Dessa forma o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial antioxidante de extratos obtidos a partir dos frutos de *Abelmoschus esculentus* em modelo de hiperglicemia baseado em zebrafish (*Danio rerio*). O extrato de *A. esculentus* avaliado apresentou efeito antioxidante em relação ao grupo controle, reduzindo a quantidade de espécies reativas formadas no fígado do peixe-zebra. A presença de compostos antioxidantes com atividade direta de sequestro de radicais livres pode ser indicativa do potencial dos frutos desta planta como adjuvante na proteção ao estresse oxidativo induzido pela hiperglicemia no diabetes mellitus tipo 2.
Palavras-chave: Diabetes mellitus. Antioxidantes. *Abelmoschus esculentus*. Peixe-zebra.

1. INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus consiste em um grupo de doenças associadas à hiperglicemia decorrente de alguma disfunção na secreção de insulina, de sua ação ou de ambas as vias, de modo a causar danos a longo prazo, principalmente nos olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos. A maioria dos casos de diabetes mellitus se enquadra em duas amplas categorias, o diabetes mellitus tipo 1 (DM1) e o diabetes mellitus tipo 2 (DM2). O DM1 se caracteriza pela destruição autoimune das células do pâncreas, resultando em níveis baixos de insulina, enquanto que o DM2

se caracteriza principalmente por uma falha nos receptores de insulina das células-alvo, comprometendo a ação da insulina nas células (INZUCCHI *et al*., 2010).

Os principais sintomas da hiperglicemia a longo prazo incluem a poliúria, a polidipsia, a perda de peso, às vezes com polifagia e visão turva. Além disso, o processo de hiperglicemia crônica está associado a um aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs), com potencial de induzir diversas alterações celulares. É necessário ter o controle de espécies reativas de oxigênio, pois em excesso, podem prejudicar o funcionamento do organismo, afetando diversas estruturas, como membranas, lipídios, proteínas, lipoproteínas e ácido desoxirribonucleico (DNA) (DROGE, *et al.*, 2002).Esses efeitos podem ocasionar um processo chamado de estresse oxidativo, danificando estruturas celulares, podendo agir como um agente carcinogênico, ou como um fator para o aparecimento de outras doenças, sendo elas cardiovasculares, respiratórias e neurológicas (PIZZINO *et al.*, 2017).

Abelmoschus esculentus é uma planta nativa da África, amplamente cultivada em regiões tropicais, inclusive no Brasil. Possui vários componentes multifuncionais (fibras solúveis, compostos fenólicos, polissacarideos, vitaminas, ácidos graxos insaturados, etc) e seus frutos e folhas são bem utilizados na culinária, medicina popular e aplicações biotecnológicas (ZHANG *et al*., 2018). Dessa forma o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial antioxidante de extratos obtidos a partir dos frutos de *A. esculentus* em modelo de hiperglicemia baseado em zebrafish (*Danio rerio*).

2. METODOLOGIA

Após sete dias de aclimatação em condições ambientais padrão, animais adultos foram randomizados em grupos experimentais (n=7). Após a divisão, os animais foram submetidos ao teste de TOTG com adaptação. Em resumo, cada grupo recebeu via oral ou via intraperitoneal (no caso da insulina) os tratamentos:

1. Grupo controle negativo (v; sem tratamento), recebendo apenas H2O, para simular o estresse da administração;
2. Grupo controle positivo (I; tratados), recebendo insulina (1 UI);
3. Grupo PAE 1, recebendo 6,25 mg/mL de extrato etanólico de frutos de quiabo;
4. Grupo PAE 2, recebendo 12,5 mg/mL de extrato etanólico de frutos de quiabo.

Após 30 minutos da administração de cada tratamento, os animais receberam 62,5 mg/mL de D-glicose, via oral. Transcorridos 90 minutos da exposição à glicose, os animais foram eutanasiados por hipotermia e então amostras de sangue foram coletadas, para determinar os níveis de glicose no sangue. Além disso, os animais foram dissecados para a retirada de cérebro e fígado para determinação do estresse oxidativo tecidual.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foi analisado o possível efeito antioxidante de *A. esculentus* em um modelo experimental de indução de hiperglicemia aguda. Foi avaliada a quantidade de espécies reativas formadas no fígado do peixe-zebra *(D. rerio*), utilizando o ensaio de oxidação da 2 '7' diclorofluoresceína (DCFH -DA). O peixe-zebra tem sido utilizado como importante modelo experimental para entender as condições fisiológicas e patológicas em vertebrados, por possuir similaridade genética com os mamíferos na faixa de 75-80% entre os mais de 1200 genes

conhecidos (CAPIOTTI *et al*., 2014). Outra vantagem desse modelo é que quando comparados a animais de maior tamanho (camundongos, ratos etc.), os eventos bioquímicos, endócrinos e moleculares ocorrem com maior velocidade no peixe-zebra. Assim, o que levaria dias ou meses para se estabelecer no organismo de mamíferos, ocorre em poucas horas no peixe-zebra (ZANG; SHIMADA; NISHIMURA, 2017). Isso justifica o achado desse estudo, que identificou o aumento significativo, aproximadamente 4 vezes, na quantidade de espécies reativas de oxigênio no grupo induzido (CP), quando comparado ao grupo não induzido (Figura 1).

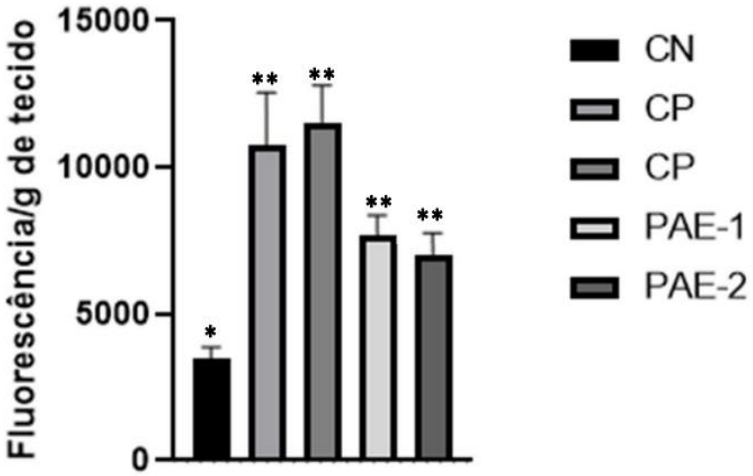


Figura 1. Níveis de espécies reativas de oxigênio no tecido hepático dos grupos tratados e não tratados com PAE-1 E PAE-2. CN: controle negativo; CP: controle positivo não tratado (H2O; Vo); CPT: controle positivo tratado (Insulina 1UI; Ip); PAE-1 e PAE-2: grupos tratados com 6,25 e 12,5 mg/mL de *A. esculentus*, respectivamente. Os resultados foram submetidos ao teste ANOVA e ao Teste de Tukey. Símbolos diferentes representam diferença estatística entre as médias (p < 0,0001).

No ensaio de oxidação da 2 '7' diclorofluoresceína (DCFH-DA), lisados celulares de tecidos são expostos ao meio reacional contendo DCFH-DA. O resultado dessa reação é uma forma altamente fluorescente (DCF), produto da oxidação de espécies reativas (ERO). Assim, a quantidade de espécies reativas da amostra é diretamente proporcional à intensidade da fluorescência. Nesse sentido, o sequestro dos ERO por meio de compostos antioxidantes impediria a ação oxidante das espécies reativas e consequentemente a emissão de fluorescência.

Em relação às diferentes doses de *A. esculentus* utilizadas no estudo, ambos PAE-1 e PAE-2 apresentaram efeito na redução do estresse oxidativo, não havendo diferença significativa entre os tratamentos (figura 1). Esses resultados indicam que PAE-1 e PAE-2 possuem potencial antioxidante agudo, haja vista o curto período de tratamento. Tal achado pode estar associado a possível presença de compostos antioxidantes com atividade direta de sequestro de radicais livres, como já descrito na literatura (ISLAM 2019; SIDDIQUE et al., 2022; VESHALINI et al., 2022).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio dos resultados foi possível evidenciar que a utilização de *A. esculentus* em um modelo experimental de indução de hiperglicemia aguda a presença de um efeito antioxidante em relação ao grupo controle, diminuindo a quantidade de espécies reativas de oxigênio nos tecidos hepáticos do peixe-zebra. Tais compostos antioxidantes agem como sequestradores dessas espécies reativas de modo que tendem a diminuir suas concentrações, evitando assim possíveis danos teciduais.

5. REFERÊNCIAS

CAPIOTTI K. M. et al. Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model. **Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.** 171, 2018. doi: 10.1016/j.cbpb.2014.03.005

DRÖGE, W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. **Physiological Reviews**, [S.L.], v. 82, n. 1, p. 47-95, 1 jan. 2002.

INZUCCHI, S E. et al. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: a patient-centered approach. **Diabetes Care**, [S.L.], v. 35, n. 6, p. 1364-1379, 11 maio 2012

ISLAM, M. T. Phytochemical information and pharmacological activities of Okra (Abelmoschus esculentus): A literature-based review. **Phytotherapy Research**. 33, 72, 2019. doi.org/10.1002/ptr.6212

PIZZINO, G. et al. Oxidative Stress: harms and benefits for human health. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, [S.L.], v. 2017, p. 1-13, 2017.

SIDDIQUE, M. H. Antidiabetic and antioxidant potentials of Abelmoschus esculentus: In vitro combined with molecular docking approach. **Journal of Saudi Chemical Society**. 26, 2, 2022. doi:10.1016/j.jscs.2021.101418

VESHALINI K. et al. Phytochemical Screening, In vitro Antioxidant Activities and Zebrafish Embryotoxicity of Abelmoschus esculentus Extracts. **Pharmacogn J**. 14, 3, 2022. doi: 10.5530/pj.2022.14.88

ZANG, L., SHIMADA, Y. & NISHIMURA, N. Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes Mellitus. **Sci Rep** 7, 1461, 2017. doi.org/10.1038/s41598-017-01432-w

ZHANG, Tao et al. Preliminary characterization and anti-hyperglycemic activity of a pectic polysaccharide from okra (Abelmoschus esculentus (L.) Moench). **Journal of functional foods**, v. 41, p. 19-24, 2018.