

EFEITOS DO EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS DE *SOLANUM VIARUM* SOBRE O METABOLISMO ENERGÉTICO DE MITOCÔNDRIAS HEPÁTICAS

Leticia Fernanda Nanami^a (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Paulo Francisco Veiga Bizerra^a, Welligton Luciano Braguini^b, Eduardo Hideo Gilgioni^a, Emy Luiza Ishii Iwamoto^a, Juliana Moraes Mewes^a, Rodrigo Polimeni Constantin^a (Orientador), e-mail: rconstantin@uem.br.

^aUniversidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

^bUniversidade Estadual do Centro-Oeste/ Setor de Ciências Agrárias e Ambientais/Guarapuava, PR.

Área: Ciências Biológicas. Sub-área: Bioquímica, Metabolismo e Bioenergética.

Palavras-chave: ATP, desacopladores, fígado.

Resumo

As mitocôndrias fornecem a maior parte da energia necessária para a homeostase hepática, especialmente durante os períodos de jejum. O principal objetivo do presente estudo foi avaliar os possíveis efeitos do extrato etanólico dos frutos de *Solanum viarum* Dunal sobre alguns parâmetros gerais do metabolismo energético em mitocôndrias isoladas de fígados de ratos. Independentemente do substrato oxidável utilizado, o extrato exerceu uma tendência de estímulo nos estados II e IV da respiração mitocondrial, enquanto o estado III da respiração mitocondrial tendeu a ser inibido. Tais efeitos foram particularmente mais evidentes quando altas concentrações do extrato foram utilizadas. Embora estes resultados não tenham sido estatisticamente significativos, tais tendências refletiram de forma estatisticamente significativa sobre os valores dos coeficientes de controle respiratório (RC) e razão ADP/O, os quais foram diminuídos na presença do extrato. Em conjunto, tais efeitos indicam que, em mitocôndrias hepáticas, as substâncias contidas no extrato etanólico dos frutos de *S. viarum* (0–500 µg mL⁻¹) atuam predominantemente como desacopladores da fosforilação oxidativa, o que pode contribuir para a toxicidade que essa planta apresenta.

Introdução

A *Solanum viarum* Dunal é uma planta da família Solanaceae comumente encontrada na América Latina e nos Estados Unidos, sendo originalmente uma espécie nativa da América do Sul (Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai), que aparece usualmente como tema de pesquisas científicas, tendo em vista sua vasta diversidade de metabólitos secundários ativos. No Brasil, é popularmente conhecida como “Joá-Bravo”, “arrebenta-boi” e “melancia do mato”, e encontra-se em invasão de pastagens, ao longo de estradas e plantações, e é considerada um problema para pecuaristas devido à sua toxicidade (BRAGUINI; PIRES; ALVES, 2018). As espécies do gênero *Solanum*, incluindo a *S. viarum*, apresentam na composição de folhas e frutos diferentes alcaloides esteroidais, como a solasodina. Dentre outras

propriedades, tais substâncias possuem a capacidade de perturbar a dinâmica das membranas celulares (PATEL et al., 2013). Alterações na ultraestrutura da membrana mitocondrial interna poderiam causar grandes prejuízos na produção de energia na forma de ATP, comprometendo vias anabólicas e outros processos hepáticos principalmente durante os períodos de jejum. Por isso, o principal objetivo do presente estudo foi avaliar os possíveis efeitos do extrato etanólico dos frutos de *S. viarum* sobre a respiração de mitocôndrias hepáticas isoladas.

Materiais e métodos

O extrato etanólico dos frutos de *S. viarum* foi obtido através de maceração exaustiva com etanol 99%. O extrato seco foi obtido após rotaevaporação a 40 °C. Para a realização dos experimentos, o extrato seco foi dissolvido em dimetilsulfóxido e utilizado em diferentes concentrações (0–500 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Para o isolamento das mitocôndrias, foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar de 49 dias de idade, pesando entre 200-280 g. Após a remoção do fígado, as mitocôndrias foram isoladas por centrifugação diferencial. Posteriormente, as concentrações proteicas das suspensões mitocondriais foram determinadas. A medida do consumo de oxigênio pelas mitocôndrias isoladas foi monitorada polarograficamente, usando um eletrodo combinado de prata e platina, revestido de teflon. Estatisticamente, os resultados foram analisados através de análise de variância *One-way ANOVA* e pós-teste de *Dunnett* ($p < 0,05$). Todos os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA nº 2132280318).

Resultados e discussão

Como pode ser observado nas **Figuras 1 e 2**, tanto na presença dos substratos glutamato e malato como succinato, ocorreu uma tendência de estímulo nos estados II e IV da respiração mitocondrial, enquanto o estado III da respiração mitocondrial tendeu a ser inibido.

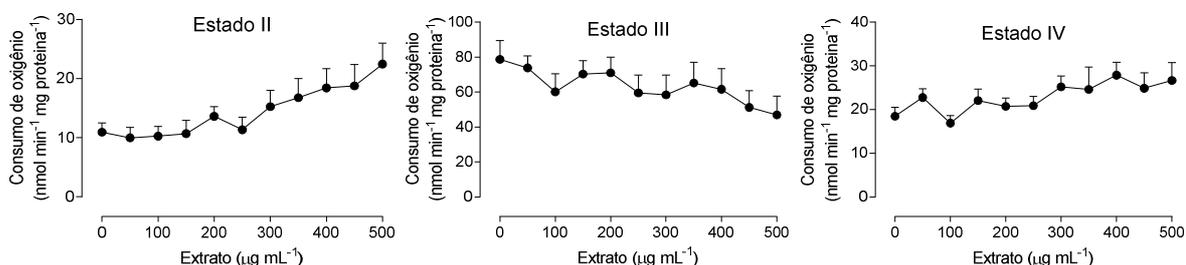


Figura 1 – Efeitos do extrato etanólico dos frutos de *Solanum viarum* sobre a respiração mitocondrial utilizando glutamato e malato como substratos oxidáveis. O consumo de oxigênio foi calculado a partir dos registros polarográficos e foi expresso em $\text{nmol min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$. Os resultados representam os valores obtidos através de 6 experimentos independentes e estão expressos como médias \pm erros padrões das médias.

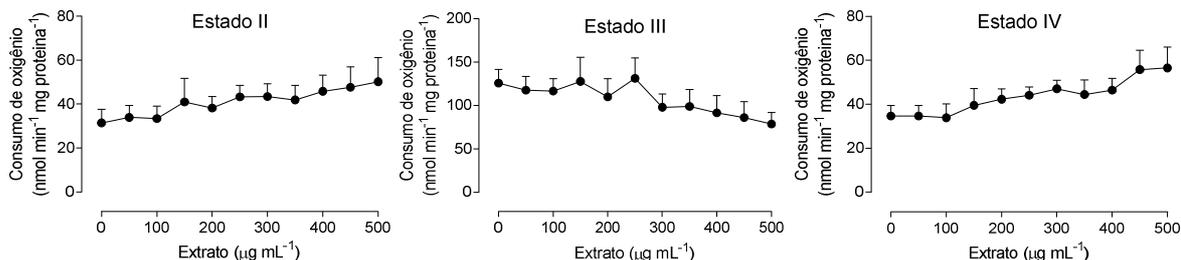


Figura 2 – Efeitos do extrato etanólico dos frutos de *Solanum viarum* sobre a respiração mitocondrial utilizando succinato como substrato oxidável. O consumo de oxigênio foi calculado a partir dos registros polarográficos e foi expresso em $\text{nmol min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$. Os resultados representam os valores obtidos através de 6 experimentos independentes e estão expressos como médias \pm erros padrões das médias.

Embora estes resultados não tenham sido estatisticamente significativos, tais tendências refletiram de forma estatisticamente significativa sobre os valores dos coeficientes de controle respiratório (RC) e da razão ADP/O. Conforme pode ser observado na **Tabela 1**, ambos os parâmetros diminuíram na presença de altas concentrações do extrato. Quando o succinato foi utilizado como substrato oxidável, o RC e a razão ADP/O decresceram 61,6% e 57,2%, respectivamente, na presença de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato etanólico dos frutos de *S. viarum*. Quando malato e glutamato foram utilizados como substratos oxidáveis, a mesma concentração de extrato diminuiu significativamente o RC em 62,4% e a razão ADP/O em 47,8%.

Tabela 1 – Efeito do extrato etanólico de *Solanum viarum* sobre o controle respiratório (RC) e a razão ADP/O em mitocôndrias intactas respirando ativamente.

Concentração do extrato ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Succinato (10 mM)		Glutamato + Malato (10 mM)	
	RC	ADP/O	RC	ADP/O
0	3,726 \pm 0,45	1,899 \pm 0,21	4,423 \pm 0,56	2,523 \pm 0,27
50	3,449 \pm 0,27	1,583 \pm 0,14	3,429 \pm 0,45	2,432 \pm 0,17
100	3,811 \pm 0,53	1,635 \pm 0,15	3,761 \pm 0,74	2,276 \pm 0,22
150	3,309 \pm 0,63	1,523 \pm 0,21	3,454 \pm 0,50	2,350 \pm 0,17
200	2,661 \pm 0,49	1,399 \pm 0,14	3,519 \pm 0,43	2,198 \pm 0,16
250	2,968 \pm 0,58	1,296 \pm 0,31	2,912 \pm 0,54	2,109 \pm 0,52
300	2,057 \pm 0,29	1,075 \pm 0,25	2,373 \pm 0,46 [#]	1,585 \pm 0,48
350	2,241 \pm 0,41	1,113 \pm 0,31	3,118 \pm 0,79	1,996 \pm 0,51
400	1,994 \pm 0,45	1,049 \pm 0,33	2,228 \pm 0,42 [#]	1,522 \pm 0,41
450	1,573 \pm 0,33 [#]	1,122 \pm 0,30	2,006 \pm 0,28 [#]	1,652 \pm 0,47
500	1,429 \pm 0,21 [#]	0,812 \pm 0,27 [#]	1,659 \pm 0,20 [#]	1,317 \pm 0,42 [#]

Valores expressos como médias \pm erros padrões das médias de 6 experimentos. [#] Significativamente diferente do controle, após teste de variância one-way ANOVA seguido pelo pós-teste de *Dunnett*. Foi adotado como critério de significância $p < 0,05$.

Os achados do presente estudo indicam que, nas mitocôndrias do fígado de ratos, o extrato etanólico dos frutos de *S. viarum* ($0\text{--}500 \mu\text{g mL}^{-1}$) atua predominantemente como um desacoplador da fosforilação oxidativa. O extrato tendeu a acelerar o consumo de oxigênio na ausência de ADP exógeno (estados II e IV da respiração), tendeu a diminuir o consumo de oxigênio na presença de ADP exógeno (estado III da respiração), diminuiu a razão ADP/O e diminuiu a razão de controle respiratório (RC), uma combinação de eventos comumente encontrados entre os desacopladores da fosforilação oxidativa. Os alcaloides esteroidais presentes na

planta *S. viarum* (PATEL et al., 2013) poderiam ser responsáveis pelo efeito desacoplador observado em mitocôndrias isoladas. Neste caso, o efeito desacoplador poderia ser devido a um aumento da permeabilidade causada por uma interação direta destes glicoalcalóides esteroidais com a membrana mitocondrial interna ou, ainda, devido à uma ação protonofórica, transportando passivamente prótons pelo gradiente eletroquímico mitocondrial (MCLAUGHLIN et al., 1980). Isso é corroborado pelo fato de que a estrutura química de glicoalcalóides esteroidais como a solasodina apresenta características gerais essenciais que podem ser esperadas para desacopladores protonóforos: uma estrutura central lipofílica com grupos protonáveis (KHANDANI et al., 2019). Se esses efeitos potencialmente tóxicos do extrato etanólico dos frutos de *S. viarum* observados em mitocôndrias hepáticas isoladas poderiam ocorrer no fígado sob condições fisiológicas *in vivo*, isso dependerá das concentrações que serão atingidas no plasma e, principalmente, na veia porta, pelas substâncias presentes no extrato.

Conclusões

O extrato etanólico dos frutos de *S. viarum* exerce efeitos sobre o metabolismo energético mitocondrial que tendem, pelo menos em princípio, a ser prejudiciais ao fígado e, conseqüentemente, ao organismo. Futuros experimentos devem fornecer uma resposta sobre a natureza das substâncias ativas implicadas nos efeitos metabólicos do extrato etanólico dos frutos de *S. viarum*. Somente o teste de substâncias puras permitirá conclusões definitivas sobre os mecanismos moleculares precisos de ação das preparações de *S. viarum*. Mesmo assim, não se pode excluir a possibilidade de que, *in vivo*, os efeitos observados no presente estudo, possam contribuir para a instauração de um quadro de intoxicação, já que a planta pode ser ingerida por animais de rebanho, até mesmo em grandes quantidades (BRAGUINI; PIRES; ALVES, 2018).

Agradecimentos

CNPq, Capes e Fundação Araucária pelo suporte financeiro.

Referências

- BRAGUINI, W. L.; PIRES, N. V.; ALVES, B. B. Phytochemical Analysis, Antioxidant Properties and Brine Shrimp Lethality of Unripe Fruits of *Solanum viarum*. **Journal of Young Pharmacists**, v. 10, n. 2, p. 159–163, 2018.
- PATEL, Kanika; SINGH, Ravi B.; PATEL, Dinesh K. Medicinal significance, pharmacological activities, and analytical aspects of solasodine: A concise report of current scientific literature. **Journal of Acute Disease**, v. 2, n. 2, p. 92-98, 2013.
- MCLAUGHLIN, S. G.; DILGER, JAMES P. Transport of protons across membranes by weak acids. **Physiological Reviews**, v. 60, n. 3, p. 825-863, 1980.
- KHANDANI, S., MEHRABANI, M., SHARIFIFAR, F., PARDAKHTY, A., POURNAMDARI, M. Development of an Efficient Extraction Method for Separating Solasodine, a Steroidal Alkaloid, From an Oily Matrix: A Comparison Between LLE and SPE. **Journal of Pharmaceutical Research International**, v. 27, n. 2, p. 1-11, 2019.