

POSSÍVEIS EFEITOS DA MORINA SOBRE O METABOLISMO ENERGÉTICO MITOCONDRIAL

Ana Clara Oliveira Abido (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Letícia Fernanda Nanami (PBQ/UEM), Eduardo Makiyama Klosowski (PBC/UEM), Márcio Shigueaki Mito (DBQ/UEM), Rogério Marchiosi (PBC/UEM), Rodrigo Polimeni Constantin⁴ (Orientador), e-mail: rpconstantin@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Ciências Biológicas/Bioquímica, Metabolismo e Bioenergética.

Palavras-chave: Obesidade; Toxicidade; Respiração mitocondrial.

RESUMO

Os flavonoides são fitoquímicos com diversas propriedades farmacológicas, incluindo efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios. A morina, um flavonol encontrado na família *Moraceae*, apresenta propriedades terapêuticas promissoras devido às suas características antioxidantes, anti-inflamatórias e hepatoprotetoras. Este estudo investigou os efeitos da morina sobre o metabolismo energético mitocondrial hepático de ratos, focando na respiração mitocondrial, capacidade oxidativa e atividade ATPásica. Os resultados indicam que a morina atua como um desacoplador mitocondrial brando, inibidor da cadeia respiratória e inibidor do translocador de nucleotídeos de adenina, interrompendo a produção de ATP. Esses achados não desabonam, necessariamente, o potencial terapêutico da morina, mas destacam a necessidade de avaliar os riscos para a função mitocondrial hepática.

INTRODUÇÃO

A obesidade, uma pandemia global, é uma preocupação crescente de saúde pública, impactando todos os países e prevendo-se um agravamento nos próximos anos (GITTELSOHN, TRUDE, 2017). Flavonoides, como a morina, são compostos vegetais com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticarcinogênicas (ČIŽMÁROVÁ et al., 2023). Encontrada em plantas da família *Moraceae*, a morina pode prevenir obesidade e diabetes, aumentando a capacidade antioxidante e normalizando o metabolismo de lipídios em ratos diabéticos (ABUOHASHISH et al., 2013). Assim, a morina surge como um potencial candidato para prevenir obesidade e diabetes. O fígado, devido à sua função na metabolização de xenobióticos, é suscetível à toxicidade medicamentosa, que em casos graves pode levar à falência hepática ou morte. Danos mitocondriais são comuns em toxicidades hepáticas causadas por medicamentos (MIHAJLOVIC, VINKEN, 2022). Este estudo investigou os possíveis efeitos tóxicos da morina em mitocôndrias hepáticas de ratos.

MATERIAIS E MÉTODOS

A morina foi dissolvida em dimetilsulfóxido e utilizada em concentrações finais de 25 a 500 μ M. Foram utilizados ratos Wistar machos, pesando entre 200 e 280 g. Os animais foram mantidos em condições controladas de luz (12h claro/12h escuro) e

temperatura (20-23 °C), com dieta padrão e água à vontade, em conformidade com as diretrizes éticas da Universidade Estadual de Maringá (protocolo n. 2483170517). Após eutanásia dos animais, as mitocôndrias hepáticas foram isoladas por centrifugação diferencial, e para obtenção de mitocôndrias rompidas, as amostras foram submetidas a ciclos de congelamento e descongelamento. A concentração de proteínas nas suspensões mitocondriais foi determinada. O consumo de oxigênio em mitocôndrias intactas foi medido polarograficamente, utilizando succinato (10 mM) e glutamato/malato (10 mM) na presença de ADP (0,125 mM). Em mitocôndrias rompidas, a atividade de NADH-oxidase, succinato-oxidase e oxidação de TMPD-ascorbato foi analisada. A reação foi iniciada com adição de substratos, e o consumo de oxigênio foi medido. A atividade ATPásica foi avaliada em mitocôndrias intactas, desacopladas e rompidas, com a reação iniciada por ATP (5 mM). O fosfato liberado foi medido. Os resultados foram expressos em $\text{nmol}/\text{min} \times \text{mg}$ de proteína. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA seguida do teste de Dunnett, utilizando o software GraphPad Prism.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos sugerem que a morina exerce uma influência moderada sobre o consumo de oxigênio mitocondrial, indicando uma possível ação como desacoplador da cadeia transportadora de elétrons. Os desacopladores mitocondriais são substâncias que podem interromper a conexão entre a cadeia transportadora de elétrons e a produção de ATP, levando à dissolução do gradiente de prótons ao longo da membrana interna das mitocôndrias. Esse processo resulta em um aumento na atividade respiratória mitocondrial, o que é observado em baixas concentrações de morina nos estados II e IV da respiração mitocondrial energizada com succinato (10 mM), substrato para o complexo II. O estímulo é seguido de uma reversão em concentrações maiores. O estado III foi inibido significativamente na faixa de 200–500 μM (**Figura 1**).

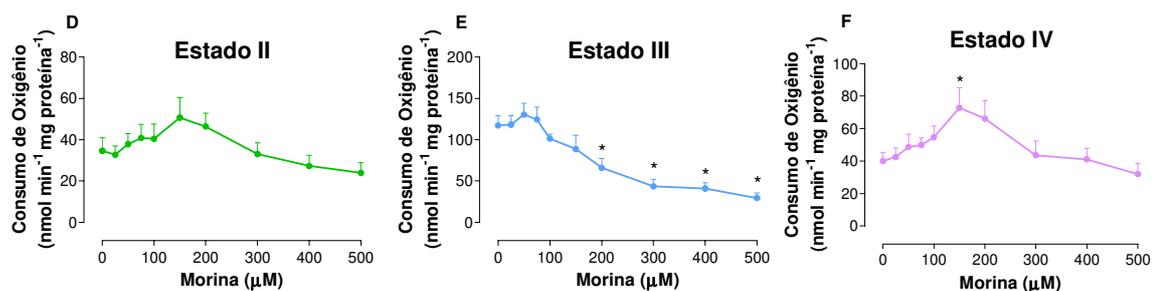


Figura 1. Efeitos da morina (25-500 μM) sobre os estados II, III e IV da respiração mitocondrial em mitocôndrias intactas energizadas com succinato. * $p < 0,05$, ANOVA com o pós-teste de Dunnett.

Em mitocôndrias energizadas com glutamato e malato, substratos para o complexo I, a morina inibiu significativamente a respiração nos estados II e IV em concentrações elevadas (500 μM e 200–500 μM , respectivamente). Além disso, a morina causou inibição significativa no estado III a partir de 100 μM (**Figura 2**). Isso sugere que além de atuar como desacoplador, o flavonol também exerce uma função inibitória. A redução observada no controle respiratório (RC) e na razão ADP/O apoia a hipótese de que a morina pode atuar como um desacoplador da cadeia transportadora de elétrons. Em condições normais, valores apropriados de RC e razão ADP/O refletem um bom acoplamento da fosforilação oxidativa. No

entanto, a diminuição desses valores pode indicar desacoplamento. De fato, o RC foi reduzido na presença de morina, tanto com glutamato e malato quanto com succinato, alcançando valores unitários nas maiores concentrações do flavonol. Além disso, a partir de 150 μM de morina, a razão ADP/O não pôde mais ser mensurada com ambos os substratos (**Tabela 1**).

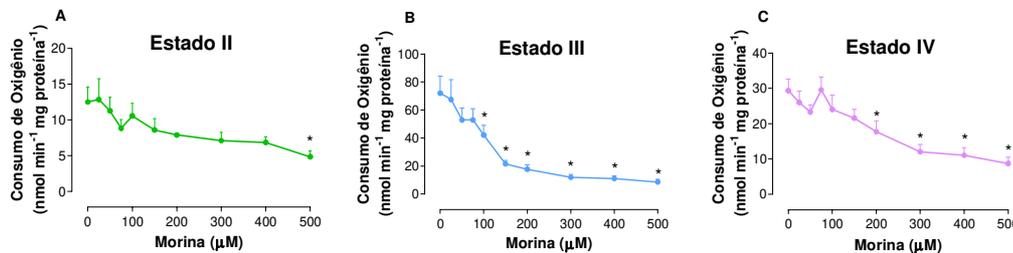


Figura 2. Efeitos da morina (25-500 μM) sobre a respiração mitocondrial em mitocôndrias intactas energizadas com malato/glutamato. * $p < 0,05$, ANOVA com o pós-teste de Dunnett.

Tabela 01. Efeitos da morina sobre o controle respiratório (RC) e a razão ADP/O.

Morina (μM)	Malato e Glutamato		Succinato	
	RC	ADP/O	RC	ADP/O
0	2,650 \pm 0,4200	2,444 \pm 0,0975	2,443 \pm 0,4385	1,614 \pm 0,0915
25	2,753 \pm 0,4993	2,420 \pm 0,1140	2,681 \pm 0,6216	1,717 \pm 0,1574
50	2,200 \pm 0,2359	2,340 \pm 0,1119	2,766 \pm 0,4896	1,533 \pm 0,1211
75	1,808 \pm 0,2764	2,580 \pm 0,2717	2,381 \pm 0,3146	1,556 \pm 0,0710
100	1,798 \pm 0,1886	2,494 \pm 0,0974	1,754 \pm 0,1556	1,385 \pm 0,0824
150 - 500	1 \pm 0 *	----	1 \pm 0 *	----

* $p < 0,05$, ANOVA com o pós-teste de Dunnett.

A morina inibe o fluxo de elétrons nos complexos I e II, conforme indicado pelos dados de respiração de mitocôndrias rompidas. Os resultados demonstram que a morina reduz as atividades das enzimas NADH-oxidase (complexo I) e succinato-oxidase (complexo II), além de inibir a oxidação de TMPD-ascorbato (complexo IV) de forma variável, como mostrado na **Figura 3**.

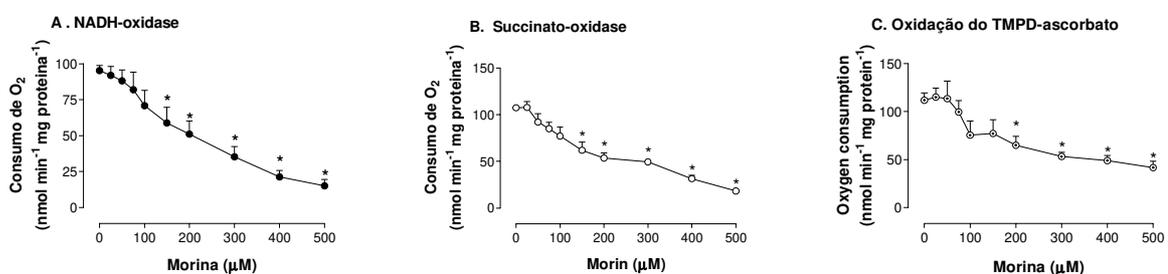


Figura 3. Os efeitos da morina sobre várias atividades enzimáticas ligadas à membrana mitocondrial de fígados de ratos. * $p < 0,05$, ANOVA com o pós-teste de Dunnett.

A morina também inibe significativamente a atividade ATPásica em mitocôndrias, tanto acopladas quanto desacopladas em 500 μM (**Figura 4**). Em

mitocôndrias rompidas não foi observada inibição, indicando que a morina inibe a troca ATP/ADP pelo transportador de nucleotídeos de adenina.

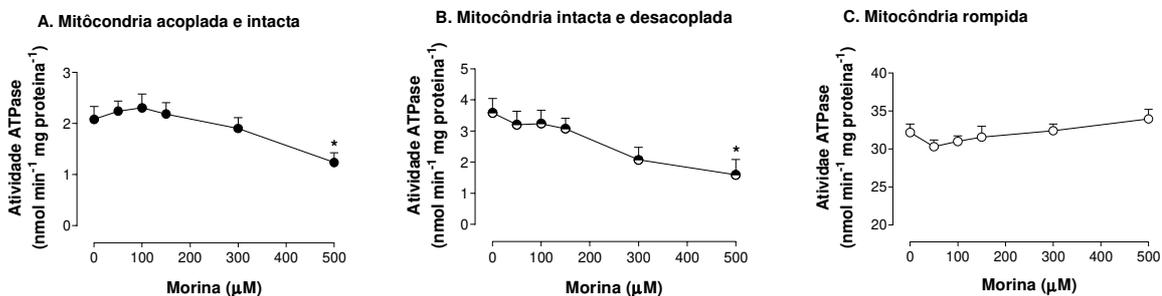


Figura 4. Os efeitos da morina sobre a atividade ATPase de mitocôndrias acopladas, desacopladas e rompidas. * $p < 0,05$, ANOVA com o pós-teste de Dunnett.

CONCLUSÕES

Os resultados indicam que a morina atua como um desacoplador mitocondrial brando, inibidor da cadeia respiratória e inibidor do translocador de nucleotídeos de adenina, interrompendo a produção de ATP. Embora a morina mostre potencial na prevenção de obesidade e diabetes tipo 2, suas propriedades desacopladoras e inibitórias no metabolismo mitocondrial exigem uma avaliação cuidadosa. São necessários mais estudos para compreender os mecanismos envolvidos e garantir a segurança da morina para uso terapêutico, considerando seu impacto na função mitocondrial hepática.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq, Fundação Araucária e CAPES pelo suporte financeiro e fomento à Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS

- ABUOHASHISH, H.M., AL-HOSAINI K, PARMAR M, AHMED M. **Alleviating effects of morin against experimentally-induced diabetic osteopenia.** Diabetology and Metabolic Syndrome, [s. l.], v. 5, n. 1, 2013.
- ČIŽMÁROVÁ, B, HUBKOVÁ B, TOMEČKOVÁ V, BIRKOVÁ A. **Flavonoids as Promising Natural Compounds in the Prevention and Treatment of Selected Skin Diseases.** [S. l.]: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 2023.
- GITTELSOHN, J., TRUDE, A. **Diabetes and obesity prevention: Changing the food environment in low-income settings.** Nutrition Reviews, [s. l.], v. 75, p. 62–69, 2017.
- MIHAJLOVIC, M., VINKEN, M. **Mitochondria as the Target of Hepatotoxicity and Drug-Induced Liver Injury: Molecular Mechanisms and Detection Methods.** [S. l.]: MDPI, 2022.