

Estudos preliminares para a especiação de alumínio em fluido biológico

Luna P. Sales¹ (IC), Luana B. Melendez¹ (PG), Aída M^a. B. Bittencourt Filha¹ (PQ), *Sílvia M. Sella¹ (PQ), Emmanoel Vieira Filho¹ (PQ).

1) Universidade Federal Fluminense.

E-mail: gqasela@vm.uff.br

Palavras Chave: Alumínio, especiação, fluido biológico

Introdução

Um dos grandes desafios na química analítica é a determinação de alumínio em baixas concentrações, devido a dificuldade em obter-se “brancos” ao nível de $\mu\text{g.L}^{-1}$ ou mesmo de poucos $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Segundo a literatura¹⁻², o alumínio no sangue está predominantemente ligado a moléculas de alta massa molecular (HMM), tais como a transferrina e a albumina, e de baixa massa molecular (LMM), como o citrato e o fosfato. Neste trabalho, iniciou-se o estudo da separação destas moléculas através da cromatografia líquida de alta eficiência e da cromatografia iônica, monitorando os compostos a 278 nm e determinando se havia ou não alumínio associado a elas. A cromatografia por exclusão de tamanho (SEC) foi usada para a distinção das HMM e LMM presentes no soro sanguíneo e a cromatografia de troca iônica para a separação das HMM.

Resultados e Discussão

A coluna SEC utilizada foi a Superdex Peptide 10/30 GL, calibrada com cisteína, vitamina B12, insulina e albumina, obtendo-se boa correlação entre a constante de distribuição (K_{av}) e o logaritmo da massa molecular dos marcadores. A troca iônica foi realizada com coluna Mono Q GL 5/50, calibrada com albumina, imunoglobulina e transferrina. O alumínio foi determinado por ICP-MS.

É apresentado, figura 1, os cromatogramas SEC obtidos com padrão A (mistura de transferrina, imunoglobulina, albumina, citrato e alumínio) e com soro sanguíneo, onde foi observado o mesmo perfil cromatográfico. Para o padrão, o 1º pico corresponde a uma mistura de imunoglobulina, albumina e transferrina, e o 2º pico (em destaque) ao citrato de alumínio. Tanto na solução padrão, quanto na amostra de soro, foi identificada a presença de alumínio. A concentração total de alumínio presente na amostra de soro foi de $36 \mu\text{g.L}^{-1}$, sendo que destes cerca de 72% estava ligado a proteínas de massa molecular superior a 7000 Da (1º. pico), e 28% associado a molécula com massa molecular semelhante ao do citrato de alumínio (2º. pico). A figura 2 apresenta o cromatograma obtido com a

coluna Mono Q, para a solução padrão B (transferrina, imunoglobulina e albumina) e para o soro sanguíneo, onde são observados um pico não completamente resolvido com imunoglobulina e transferrina, nesta ordem, e o pico da albumina. Em etapa posterior, será otimizada a separação na Mono-Q da imunoglobulina e transferrina e realizado o acoplamento do sistema cromatográfico a ICP-MS para a identificação do alumínio nestas frações.

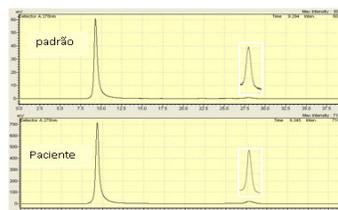


Figura 1. Cromatograma de solução padrão e soro sanguíneo de paciente. Coluna Superdex Peptide 10/30 GL. Em destaque, pico correspondente ao citrato de alumínio. Fluxo $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, comprimento de onda de 278 nm, eluente Tris-HCl 20 mM + $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0,25 mM.

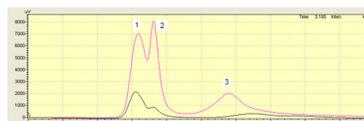


Figura 2. Cromatograma do padrão (cor rosa) com imunoglobulina (1), transferrina (2) e albumina (3) e do soro (cor preta). Coluna Mono Q GL 5/50. Fluxo $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, comprimento de onda de 278 nm, eluente Tris-HCl 20 mM + $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0,25 mM.

Conclusões

A identificação das espécies as quais o alumínio está ligado no fluido humano e a quantificação desse metal é um importante avanço para o entendimento do seu mecanismo no corpo humano. Com isso, a correlação desse metal com doenças neurológicas como Autismo, Parkinson, Alzheimer além da disfunção renal, poderão ser melhor estudadas.

Agradecimentos

UFF/ PIBIC – CNPq

¹ Fewtrell, M. S.; Edmonds, C. J.; Isaacs, E.; Bishop, N. J. e Lucas, A. Proc. of the Nut. Soc. **2011**, 70, 299–304.

² Sanz-Medel, A.; Cabezuelo, A. B. S.; Milacic, R. e Polak, T. B. Elsevier. **2002**, 228, 373–383.