

# Estudo da interação entre Mn(II) e albumina utilizando espectroscopia eletrônica

**Luciene Paiva M. Cançado¹(PG)\*, Louise L. Denda1(IC), Rafael P. Vieira1 (PQ)\***

¹ Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

Correspondência: lucienepaivams@ufmg.br, vieirarp@icb.ufmg.br



O rompimento da barragem de rejeitos de mineração ocorrido em 2015 no município de Bento Rodrigues favoreceu a disseminação de contaminantes orgânicos e inorgânicos perigosos na Bacia do Rio Doce (BRD), em Minas Gerais. Embora características geológicas naturais da bacia contribuam para a presença desses elementos, é evidente que o desastre, somado à exploração mineral intensa por décadas, é responsável pelo aumento dos níveis de metais como ferro, cobre e manganês ao longo do curso d'água. Estudos realizados em 2023 identificaram uma elevada concentração de manganês na BRD, cerca de quatro vezes os limites legais (1). O manganês é um elemento essencial ao organismo para a manutenção da função e do crescimento normais das células humanas, no entanto, em concentrações elevadas pode estar relacionado a processos neurodegenerativos, como as Doenças de Alzheimer e de Parkinson (2-3). Embora a interação entre manganês e albumina já tenha sido descrita, este estudo se diferencia por investigar tais interações em concentrações próximas às detectadas nas águas da BRD, aproximando a pesquisa de uma situação ambiental real. Além disso, a escolha inicial da albumina deve-se ao seu baixo custo e à natureza exploratória dos experimentos de abertura do projeto. Atualmente, estamos conduzindo análises da interação entre manganês e proteínas do sistema nervoso, de modo a definir os parâmetros experimentais mais adequados para, na sequência, realizarmos estudos nas doses previamente estabelecidas com células e com modelo murino. Situação em que serão explorados os impactos da exposição crônica ao manganês sobre o sono e memória.Nesta situação, serão investigados os efeitos da exposição prolongada ao manganês na qualidade do sono e na memória. Esse projeto é de grande importância, uma vez que utilizando os modelos *in vitro* e *in vivo* podemos contribuir para possíveis intervenções na população antes que os efeitos se agravem ainda mais. Para confirmar e aprofundar as interações observadas, serão empregadas técnicas adicionais como ressonância paramagnética eletrônica (EPR), emissão de fluorescência e espectroscopia no infravermelho.

*Palavras-chave: manganês, albumina, Doença de Alzheimer, espectroscopia eletrônica*



# Introdução

O rompimento da Barragem de Fundão, ocorrido em novembro de 2015, no município de Bento Rodrigues (MG), provocou um dos maiores desastres ambientais do Brasil relacionados à mineração, aumentando as concentrações de metais na BDR, entre eles o manganês, que aparece em concentrações de até quatro vezes acima do limite permitido em água doce, de acordo com o CONAMA, gerando preocupações quanto ao impacto desse contaminante na saúde humana e no meio ambiente (1,4). O manganês é um elemento traço essencial para diversas funções fisiológicas, estando envolvido em processos enzimáticos e no metabolismo celular. No entanto, grandes concentrações desse metal têm sido associadas a efeitos tóxicos, neurológicos, tendo relação com processos neurodegenerativos (2,5). Uma das hipóteses descritas na literatura é a de que o manganês pode interagir com proteínas alterando suas estruturas e funções, dentre elas a albumina, principal proteína responsável pelo transporte de diversas substâncias, inclusive de metais e outras do sistema nervoso. Albumina sérica foi escolhida como ponto de partida por seu baixo custo e por possibilitar experimentos exploratórios iniciais que fornecem parâmetros básicos para as próximas etapas. O presente trabalho apresenta um diferencial ao investigar tais interações em concentrações próximas às encontradas nas águas da BRD, conectando dados ambientais regionais a possíveis consequências neurológicas.

A espectroscopia de absorção UV-vis é um dos métodos eficazes e intuitivos para explorar em um primeiro momento, o processo de ligação entre o metal e a BSA. Nesse contexto, a técnica foi utilizada para avaliar as alterações estruturais ocorridas pela interação albumina-Mn, propondo a formação de um complexo metal-proteína após análises. O projeto prevê a ampliação da investigação para proteínas de relevância neurológica, em associação ao uso de técnicas espectroscópicas adicionais — ressonância paramagnética eletrônica (EPR), emissão de fluorescência e espectroscopia no infravermelho

Experimental

*Preparo das soluções.*

Preparou-se 10 mL de solução aquosa de albumina sérica bovina (ASB) e 25 mL de solução de cloreto de manganês II (Mn(II)), ambas na concentração 0,0001 mol L-1.

*Preparo da placa para análise no espectrofotômetro de UV-vis.*

Em uma placa de 96 poços com capacidade de 400 µL cada, foram adicionados 200 µL de solução aquosa de ASB, em triplicata. Em seguida, foram acrescentadas soluções de cloreto de manganês e água, conforme proporções descritas na Tabela 1, de modo a obter concentrações finais de Mn2+ de 0,0001; 0,0005; 0,001; 0,005 e 0,01mol L-1.

A leitura da placa foi realizada em espectrofotômetro de UV-vis Thermo Scientific Multiskan Go.

**Tabela 1. Quantidades (volume) de ASB, solução do íon metálico e água**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ASBµL | Cloreto do metalµL | ÁguaµL |
| 200200200200200200 | 01050100150200 | 200190150100500 |

# Resultados e Discussão

Os resultados preliminares obtidos a partir da espectroscopia UV-Vis evidenciam alterações na absorbância da albumina após a adição do íon metálico, sendo estas mudanças mais acentuadas nas soluções com maior concentração de cloreto de Mn(II), conforme ilustrado na Figura 1. Tais modificações são condizentes com a formação de um complexo ASB:Mn.  Esse resultado reforça a hipótese de que o manganês, em níveis próximos aos encontrados na BRD, é capaz de interagir de forma direta com proteínas plasmáticas, alterando suas propriedades estruturais. Esses dados serão fundamentais para estabelecer parâmetros experimentais para as próximas etapas do projeto, incluindo a investigação com o peptídeo β-amiloide e posteriormente com modelos celulares e modelo murino.ab

**Figura 1.** a)Espectro no UV-Vis de albumina e albumina-manganês. b) Espectro UV-Vis da Albumina.

# Conclusões

Ao analisarmos os espectros de UV-vis da albumina pura e após adição de Mn(II), observamos que há interação entre eles formando um complexo metal-albumina. Mais estudos serão realizados modificando parâmetros como por exemplo o valor de pH do meio e concentrações do íon metálico além do uso de outras técnicas de espectroscopia. Após haver um desenho experimental bem estruturado, estudaremos a agregação Mn(II) com β-amiloide e possivelmente com α-sinucleína, a fim de entender o mecanismo de ligação com outras proteínas relacionadas a funções neurológicas. Além disso, ampliaremos os experimentos para interação com células neurais e posteriormente estudos eletrofisiológicos, de comportamento e outros em camundongos.

# Agradecimentos

Aos orientadores e colaboradores, à Universidade Federal de Minas Gerais, ao departamento de bioquímica e imunologia do ICB – UFMG e aos órgãos de fomento, FAPEMIG (APQ-04447-24), CNPq e CAPES.

**Referências**

1. F.Y. Yamamoto *et al*. *Journal of Hazardous Materials Advances.* **2023**, 9.100250.
2. L. Mezzaroba *et al*. *NeuroToxicology,* **2019**, 74, 230-241.
3. Gu *et al*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. **2021**, 119981.
4. CONAMA, *RESOLUÇÃO No 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005.* Publicada no DOU nº 053, de 18/03/2005. **(2005)**, 58-63.
5. I. Nyarko-Danquah *et al. Molecules.* **2020,** 25. 5880.

