

11ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS & 8º Simpósio de Pós-Graduação

NÍVEL DE FERRO SÉRICO EM RATAS WISTAR SADIAS E DIABÉTICAS NO PERÍODO DE 12 SEMANAS

Lais G. CASALOTI¹; Xóchitl A. R. T. TRUJILLO², Jorge A. N. SANTOS³

RESUMO

O presente estudo foi desenvolvido no período de intercâmbio acadêmico da aluna de Licenciatura em Ciências Biológicas do IFSULDEMINAS ao realizar sua instância no Centro de Investigaciones Biomédicas da Universidade de Colima- México. Estudos recentes indicam relações possíveis entre ferro e Diabetes, dessa forma o estudo buscou analisar a diferença entre níveis de ferro sérico em ratas wistar macho saudáveis e com Diabetes Mellitus utilizando a técnica de ferrozina. O período entre indução da Diabetes e eutanásia foi o de 12 semanas. Foram encontrados valores de $531,59 \pm 3.04$ de ferro sérico para diabéticas e $554,85 \pm 12,48$ para as saudáveis, indicando que as amostras coletadas de ferro sérico das ratas saudáveis possuíam valor elevado em relação as diabéticas.

Palavras-chave: Diabete Mellitus, ferro, ferrozina.

1. INTRODUÇÃO

Ferro é um mineral encontrado tanto na natureza quanto em organismos biológicos, onde desempenha papéis de alta importância, dado que está envolvido em diversos processos metabólicos como ADN biossíntese, geração de ATP, função estrutural no citocromo (ANDREWS, 2000) também faz parte de várias metaloproteínas e enzimas e tem como função essencial, a absorção de oxigênio e sua entrega aos tecidos, utilização de oxigênio pelas células musculares, e a produção de energia mitocondrial (KELLY; MCSORLEY; PATEL, 2017)

Por ser um metal com capacidade altamente redox, pode ser tóxico quando presente em excesso no organismo, dado que atua catalisando a formação de espécies de oxigênio reactivas.

Assim, a ingestão de ferro, transporte, distribuição e armazenamento são precisamente controlados para equilibrar estas características duais de essencialidade e toxicidade (BRIAT & LEBRUN, 1999).

É comum o estudo sobre concentração de ferritina e transferrina para as análises de níveis de ferro em pacientes que possuem problemas como sobrecarga de ferro, hemocromatose (HH), ou deficiência em ferro como anemia. A ferritina é uma proteína globular que possui função de armazenamento de ferro, e a transferrina é o polipeptídeo responsável pelo transporte do ferro para as células da medula espinhal, baço, fígado e músculo. A concentração de ferritina é um indicador importante das reservas totais de ferro no organismo e uma concentração de $<12-15 \mu\text{g} / \text{l}$ é tomada para indicar depósitos de ferro deficientes (A NORTHROP-CLEWES, 2008).

Compreender os mecanismos envolvidos tanto na absorção, utilização, reciclagem e regulação

¹ Bolsista Fapemig- IFSULDEMINAS-Campus Inconfidentes –Email: lais00casaloti@gmail.com

² Professora Efetiva na UCOL- Colima- México/ Centro de investigaciones biomédicas: rosio@ucol.mx

³ Orientador- IFSULDEMINAS- Campus Inconfidentes – Email: jorge.santos@ifsuldeminas.edu.br

desse metal é de vital importância para que seja mensurável qual o papel do ferro e quais as possibilidades de interação com outras substâncias que podem acarretar em enfermidades ou atrapalhar no tratamento das mesmas, como no caso a Diabetes Mellitus que é o foco desse trabalho.

Diabetes como é comumente conhecida, ou Diabetes Mellitus como é tratado pela comunidade científica é um grupo de doenças metabólicas caracterizadas por hiperglicemia crônica resultante de defeitos na secreção de insulina, ou problemas na sinalização da insulina com os receptores de membrana celulares. Níveis baixos de insulina ou resistência à insulina de tecidos-alvo, principalmente músculos esqueléticos, tecido adiposo e, em menor extensão, fígado, fazem com que as moléculas de glicose não entrem nas células, causando anormalidades (MONTEIRO, 2012).

Os mecanismos que explicam a associação do excesso do ferro com alterações no metabolismo da glicose ainda não estão bem estabelecidos. Entretanto, alguns mecanismos foram sugeridos, dado que o ferro tem grande capacidade de oxirredução e sua forma livre pode catalisar a formação de radicais livres causando danos celulares.

Um dos mecanismos sugeridos envolve a formação do radical hidroxila que pode tanto danificar as membranas celulares das células β , afetando a síntese e secreção de insulina pelo pâncreas, quanto o segundo, no qual teria uma ação mais periférica, com a deposição do ferro no músculo, que danificaria o tecido muscular levando à diminuição da captação de glicose (GARCIA *et al*, 2012).

Recentemente, em um modelo de camundongo com hemocromatose, foi demonstrado que o consumo de glicose é aumentado no músculo esquelético, mas a oxidação de glicose é diminuída, e a razão de ácidos graxos por oxidação de glicose é aumentada, o que contribui para o risco de diabetes (MEHDAD, 2013).

O metabolismo do ferro em ratos de laboratório é o principal modelo usado para compreender a homeostase desse metal, pois é geralmente semelhante ao do homem. No entanto sabemos que os ratos consomem muito mais alimentos em comparação com sua massa corporal, e têm maiores perdas de ferro em relação às reservas. O tempo de vida dos eritrócitos murinos é de 40 dias, diferente do ser humano que é de 120. Outra questão que dever ser analisada é que eles geralmente não consomem carne e absorvem mal o ferro heme da dieta (COFFEY; GANZ, 2017).

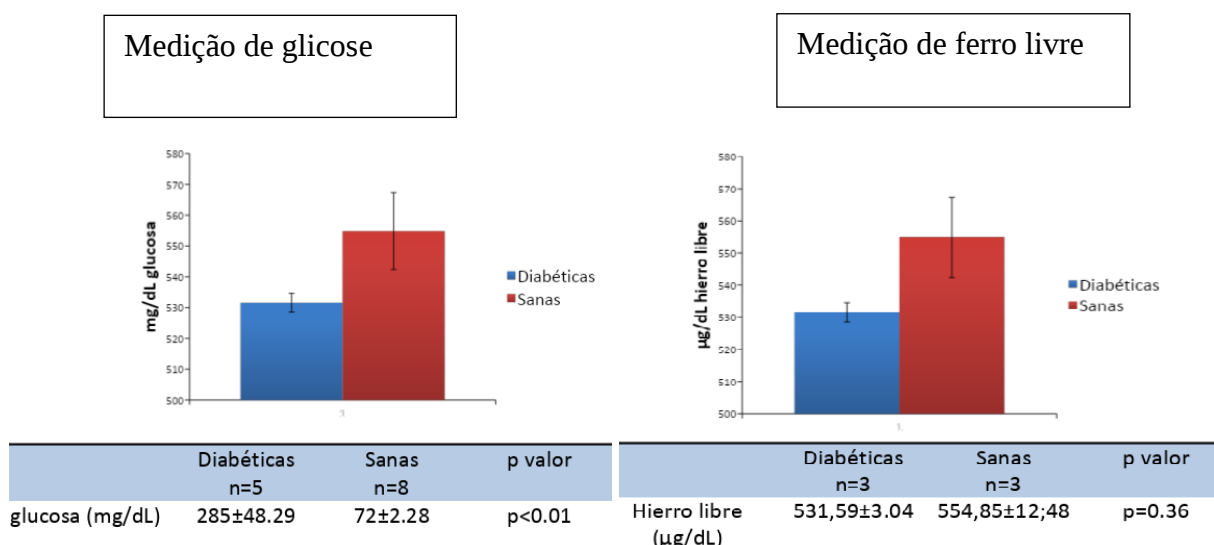
Como apresentado acima, existem muitos estudos sobre a homeostase do ferro, mas poucos dados a respeito da relação entre esse metal e a Diabetes Mellitus. Sendo assim vê-se necessário um estudo que possa melhor evidenciar a concentração de Fe no sangue, e sua relação com a diabetes. Para essa pesquisa usamos ratas Wistar sadias e diabéticas para verificar os níveis de Fe no sangue para ter uma maior clareza se existe diferença nos níveis de Fe entre ratas diabéticas e sadias.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para o experimento foram selecionadas 13 ratas macho Wistar do biotério da Universidade de Colima com peso médio de 250 ± 50 g, as medidas utilizadas como base comparativa foram: 5 ratas com STZ y glucosa > 200 mg/dL (grupo diabético); e 8 ratas con glucosa 65-100 mg/dL (grupo saudável). Cabe ressaltar que a utilização dos animais passou pelo critério bioético do próprio Centro de Investigações da Universidade.

Para a detecção do ferro não hêmico, foram escolhidas aleatoriamente amostras de 6 ratas, 3 do grupo com Diabetes, e 3 do grupo das ratas saudáveis. Foram coletadas 20µL de soro, posteriormente acrescentado 200µL de HCl 1.4M. O material foi incubado por 2 horas a 60°C em banho maria; e depois centrifugado a 10,000 G. Foi transferido 200 µL do sobrenadante, e agregado 300µL da solução cromógena (1M de ácido ascórbico+1.5M de acetato de amônio + 0.508 mM de ferrozina). A solução foi incubada durante 30 min a temperatura ambiente, seguida de agitação constante e coberta com alumínio. Foi realizada uma curva de calibração com as concentrações de ferro esperadas e a leitura foi realizada no leitor de elisa, onde o espectro analisado foi o de 562 nm. Depois da coleta das amostras e análise no espectro os dados foram tabulados e organizados no Microsoft Excel®, e também foram calculados a média e desvio padrão das amostras.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES



O grupo das ratas diabéticas apresentou como média 285 de glicose mg/dL, enquanto as saudáveis apresentou 72 mg/dL. Já na análise de ferro livre, obtivemos valores médios de 531,59 para as ratas Winstar diabéticas e 554,85 para as saudáveis, descartando a hipótese de que encontraríamos valores altos de ferro sérico para as ratas diabéticas.

4. CONCLUSÕES

Foi observado uma tendência de que as ratas saudáveis tiveram maior quantidade de ferro livre sérico do que as ratas diabéticas. Concluimos que deveríamos aumentar o tamanho da amostra

para diminuir a variabilidade dos resultados, aumentando a confiabilidade. Além disso, deve-se analisar a relação entre perda de ferro pela urina e fezes, e verificar a concentração de ferro nas proteínas plasmáticas.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Investigaciones Biomédicas da Universidade de Colima (UCOL) pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa, e ao IFSULDEMINAS pela concessão da bolsa de Intercâmbio entre Brasil e México.

REFERÊNCIAS

A NORTHROP-CLEWES, Christine. Interpreting indicators of iron status during an acute phase response – lessons from malaria and human immunodeficiency virus. **Sage Journals: Annals of Clinical Biochemistry**, Atlanta, v. 45, p.18-32, 2008.

ANDREWS, Nancy C. Iron homeostasis: insights from genetics and animal models. **Nature Reviews Genetics**, [sl], v. 1, n. 3, p.208-217, dez. 2000. Springer Nature. Acesso em <<http://dx.doi.org/10.1038/35042073>>

BRIAT, J.F.; LEBRUN, M. Plant responses to metal toxicity. C. R. **Académie des Science**, Paris, 322: 43-54, 1999.

COFFEY, Richard; GANZ, Tomas. Iron homeostasis: An anthropocentric perspective. **Jbc Minireview**, Los Angeles, p.1-9, 14 jun. 2017.

GARCIA, A. C.; ROSCHEL, H.; RAMOS, S.; BENATTI, F. B. Iron supplementation and its association with the incidence of gestational diabetes mellitus. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = **J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, SP, v. 37, n. 2, p. 215-226, ago. 2012.

KELLY, Alison U; MCSORLEY, Stephen T; PATEL, Prinesh. Interpreting iron studies. **Bmj**, Reino Unido, p.357-2513, 15 jun. 2017. Trimestral.

MEHDAD, Azadeh. A influência da manipulação dietética do ferro sobre os parâmetros relacionados ao metabolismo de glicose. 2013. 78 f. **Tese** (Doutorado) - Curso de Nutrição, Departamento de Nutrição, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

MONTEIRO, Maria Teresa Rincón Vieira Lugarinho. Diabetes Mellitus uma epidemia do século XXI Como evitar e tratar esta situação. 2012. 18 f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Medicina, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - U.porto, Universidade do Porto, Porto, 2012.