



Efeito do Tempo e da Temperatura de Congelamento de Amostras Teciduais e Plasmáticas para Avaliação de Parâmetros de Estresse Oxidativo



Bortolin, RC; Behr, GA; Bristot, IJ; Morrone, MS; Simões-Pires, A; Schnorr CE; Moreira, JCF;

Centro de Estudos em Estresse Oxidativo - Laboratório 32 - Departamento de Bioquímica
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul – Brasil

Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de dois protocolos de armazenamento, um a temperatura de -20°C e outro a -80°C em diferentes tempos, sobre os parâmetros de estresse oxidativo de amostras teciduais e plasmáticas.

Material e Métodos

Foram retirados sangue, sistema nervoso, fígado, rim e coração de 32 ratos Wistar machos com 120 dias e armazenados em alíquotas a -20°C e -80°C. Estas alíquotas foram descongeladas mensalmente e os seguintes parâmetros foram avaliados: quantificação da atividade de defesas enzimáticas; quantificação de peroxidação lipídica, de proteínas carboniladas e de tiois reduzidos.

Resultados

O congelamento causou danos, principalmente, sobre a atividade das enzimas.

Todos os resultados estão expressos como Média e Desvio Padrão. Um asterisco representa diferença em relação ao controle e dois asteriscos representam diferença em relação ao controle e entre as temperaturas. Para estatística foi utilizado ANOVA seguido de TUKEY com o P<0,05.

Tabela 1: Avaliação dos danos a proteínas e lipídios de eritrócito.

	Carbonil (pmol/mg prot)		TBARS (nmol/mg prot.)		Sulfidril (nmol/mg prot)	
	-20 °C	-80°C	-20°C	-80°C	-20°C	-80°C
Controle	0,9637 ± 0,5943		0,08612 ± 0,07301		196,1 ± 36,07	
30 dias	1,5466 ± 0,4358	0,6221 ± 0,4403	0,5765 * ± 0,1502	0,3583 * ± 0,2439	401,7172 * ± 43,11	425,8095 * ± 28,32
90 dias	nd	nd	0,2304 ± 0,04211	0,0499 ± 0,02495	73,4917 * ± 32,57	103,6828 * ± 11,81
150 dias	0,0290 * ± 0,01837	0,1499 ± 0,2463	0,5161 * ± 0,2073	0,25 ± 0,1321	91,3167 * ± 14,20	100,0958 * ± 13,22

Tabela 2: Avaliação da atividade enzimática de eritrócito.

	U SOD/mg prot		U CAT/mg prot		U GPX/mg prot	
	-20 °C	-80	-20°C	-80°C	-20°C	-80°C
Controle	237,7 ± 54,45		256,7 ± 23,14		7,756 ± 1,737	
30 dias	85,0403 * ± 7,56	77,0531 * ± 12,65	146,6707 * ± 12,23	154,4273 * ± 20,72	4,540 * ± 0,2734	6,808 ± 1,173
90 dias	56,5878 * ± 14,66	69,9848 * ± 7,43	155,5285 * ± 33,26	179,0805 * ± 34,77	9,036 ± 1,549	11,43 * ± 1,273
150 dias	44,2116 * ± 11,88	46,2758 * ± 14,06	96,3728 * ± 19,83	85,8960 * ± 37,22	nd	nd

Tabela 3: Avaliação dos danos a proteínas e lipídios de coração.

	Carbonil (pmol/mg prot)		TBARS (nmol/mg prot.)		Sulfidril (nmol/mg prot)	
	-20 °C	-80°C	-20°C	-80°C	-20°C	-80°C
Controle	0,001677 ± 0,0006389		1,087 ± 0,4927		2,326 ± 0,3327	
30 dias	0,002059 ± 0,001360	0,001560 ± 0,0008206	0,07935 ± 0,02715	0,07556 ± 0,007851	3,180 ± 1,815	2,816 ± 0,2623
60 dias	0,003022 ± 0,002147	0,001651 ± 0,0005095	nd	0,2779 ± 0,1556	1,168 ± 0,5144	3,211 ± 0,4787
150 dias	nd	nd	nd	nd	1,479 ± 0,2789	2,396 ± 0,2849

Tabela 4: Avaliação dos danos a proteínas e lipídios de coração.

	U SOD/mg prot		U CAT/mg prot		U GPX/mg prot	
	-20 °C	-80°C	-20°C	-80°C	-20°C	-80°C
Controle	nd		256,7 ± 23,14		6,301 ± 1,773	
30 dias	nd	nd	146,6707 * ± 12,23	154,4273 * ± 20,72	7,898 ± 1,845	6,405 ± 1,333
90 dias	nd	nd	155,5285 * ± 33,26	179,0805 * ± 34,77	10,36 ± 3,566	9,290 ± 3,160
150 dias	nd	nd	96,3728 * ± 19,83	85,8960 * ± 37,22	nd	nd

Tabela 5: Avaliação dos danos a proteínas e lipídios de fígado.

	Carbonil (pmol/mg prot)		TBARS (nmol/mg prot.)		Sulfidril (nmol/mg prot)	
	-20 °C	-80°C	-20°C	-80°C	-20°C	-80°C
Controle	0,9637 ± 0,5943		1,194 ± 0,1765		43,29 ± 7,529	
30 dias	1,5466 ± 0,4358	0,6221 ± 0,4403	nd	nd	37,62 ± 6,854	34,86 ± 7,257
90 dias	nd	nd	1,009 ± 0,06430	1,014 ± 0,1884	36,77 ± 5,575	36,42 ± 4,663
150 dias	0,0290 * ± 0,01837	0,1499 ± 0,2463	0,6571 ± 0,1841	3,494 ** ± 2,150	63,31 * ± 9,669	56,81 ± 9,650

Tabela 6: Avaliação dos danos a proteínas e lipídios de fígado.

	U SOD/mg prot		U CAT/mg prot		U GPX/mg prot	
	-20 °C	-80°C	-20°C	-80°C	-20°C	-80°C
Controle	122,8 ± 31,24		89,21 ± 24,19		3,651 ± 1,463	
30 dias	14,00 * ± 7,981	79,23 ± 39,60	33,87 * ± 6,765	33,54 * ± 5,723	3,575 ± 1,399	3,370 ± 1,078
90 dias	117,6 ± 41,94	133,3 ± 32,83	68,57 ± 27,87	74,44 ± 9,484	13,87 * ± 3,196	13,51 * ± 1,556
150 dias	191,7 ± 90,03	170,5 ± 91,19	92,88 ± 47,53	104,3 ± 54,89	6,348 ± 1,398	4,020 ± 0,8424

Conclusão

Concluimos que variações no tempo de congelamento podem levar a resultados enganosos.

