

Jordana S. Putti, Paulo V. G. Alabarse<sup>a</sup>, Tiago B. Salomon<sup>b</sup>, Giordana B. De Souza<sup>b</sup>, Artur K. Schüller<sup>b</sup>, Mara S. Benfato<sup>a</sup>

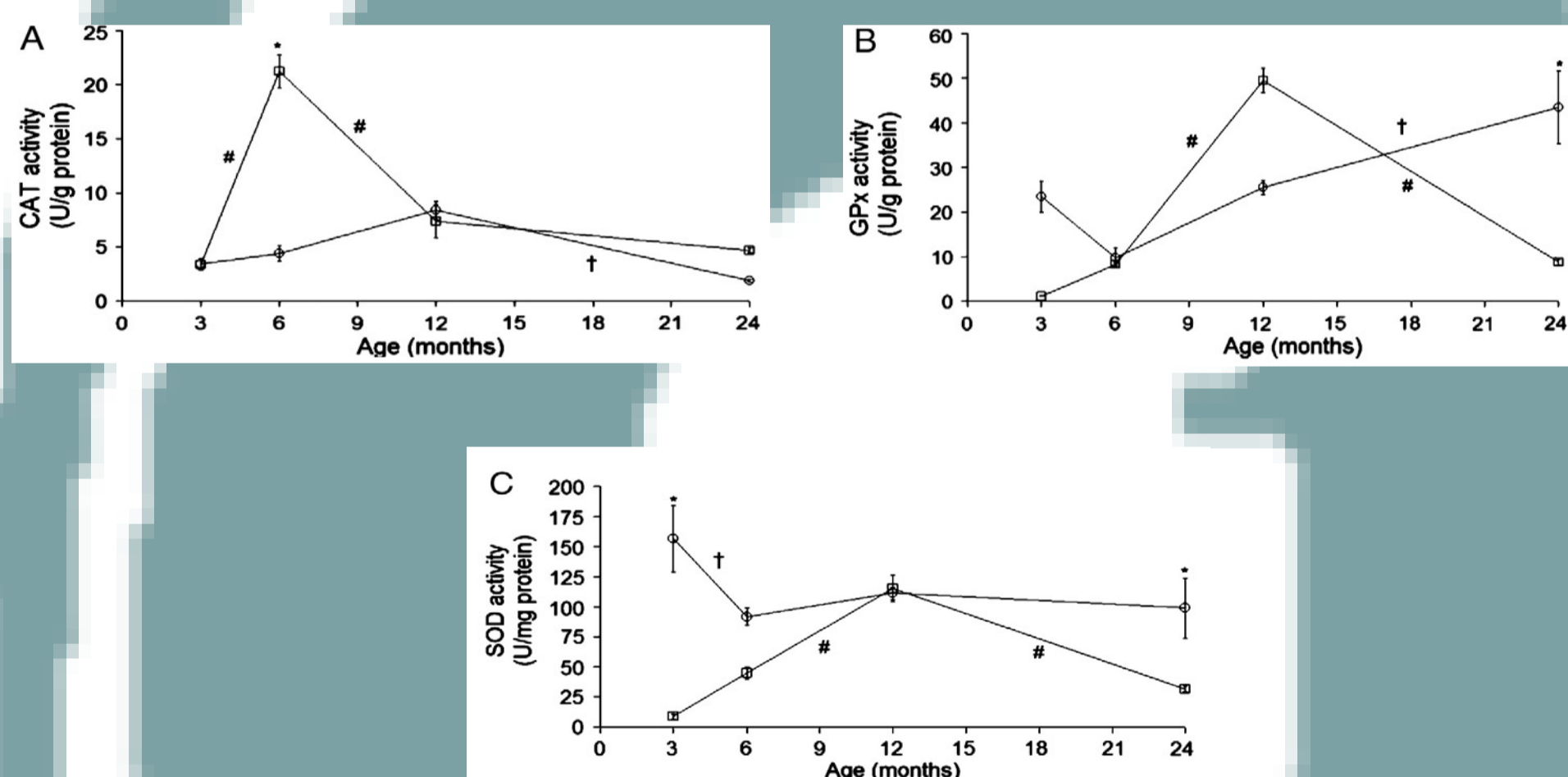
<sup>a</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>b</sup>Laboratório de Estresse Oxidativo, Departamento de Biofísica, IB, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

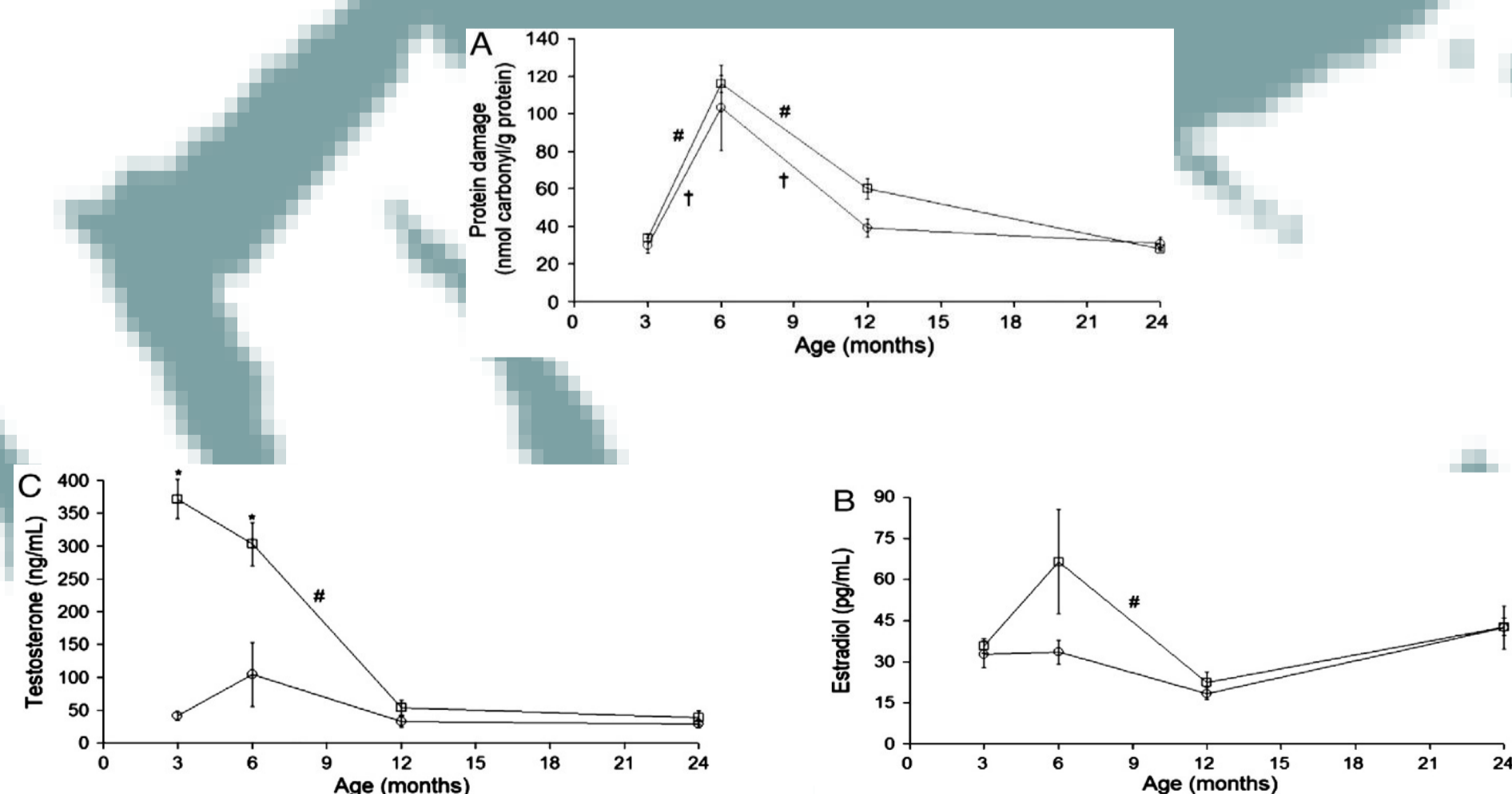
## Introdução

O estresse oxidativo pode ser definido como o desequilíbrio entre a formação e remoção de agentes oxidantes no organismo, decorrente da geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) e/ou diminuição de antioxidantes endógenos. Como forma de combater esse desequilíbrio um organismo é capaz de produzir enzimas como a Catalase (CAT), a Glutaciona Peroxidase (GPx) e a Superóxido Dismutase (SOD) que tem ação antioxidante. Fazendo medição de tais enzimas, o Laboratório de Estresse Oxidativo(LEO) do Departamento de Biofísica da UFRGS avaliou as defesas enzimáticas e o dano oxidativo (índice de danos em proteínas - carbonil) no rim de ratos machos tendo como parâmetro a diferença de idade (ratos com idade entre 3 e 24 meses) e hormonal (reprodutores e não reprodutores).

## Resultados



**Figura 1:** Atividade enzimática da CAT (A), GPx (B), e SOD(C) em tecido renal de ratos com idades entre três, seis, doze e 24 meses agrupados como não reprodutores (círculos) ou reprodutores(quadrados). A CAT apresentou maior atividade em ratos reprodutores de 6 meses de idade; a GPx foi menor nos ratos reprodutores de 24 meses de idade; a GPx e a SOD aumentaram de 6 para 12 meses e diminuíram de 12 a 24 meses de idade. Em ratos não reprodutores a atividade da CAT diminuiu de 12 a 24 meses de idade; a GPx aumentou de 12 a 24 meses de idade.



**Figura 2:** Nível de dano protéico(carbonil) (A), e nível hormonal de estradiol (B) e testosterona (C) em rins de ratos reprodutores e não reprodutores. Houve aumento de testosterona em ratos reprodutores em relação aos não reprodutores entre 3 e 6 meses. Os níveis de estradiol e testosterona diminuíram entre 6 e 12 meses nos ratos reprodutores. Os níveis de carbonil aumentaram de 3 para 6 meses e diminuíram de 6 para 12 em ambos os grupos de ratos.

## Material e Métodos

### Animais:

O estudo utilizou 80 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) com idades de 3, 6, 12 e 24 meses. Com um mês de idade os ratos foram divididos em dois grupos: reprodutores e não reprodutores (n = 10 para cada idade e grupo). Ratos reprodutores foram mantidos em uma caixa com uma única fêmea da mesma idade (1 macho e 1 fêmea por caixa). Ratos sem atividade reprodutiva foram agrupados com outros ratos machos sem qualquer contato com fêmeas (5 por caixa).

### Ensaio:

Medições de nível hormonal - Os níveis de testosterona e 17 $\beta$ -estradiol foram estimadas por radioimunoensaio usando os kits: Testosterona RIA DSL-4100<sup>®</sup> e Estradiol RIA DSL-4100(Diagnostic Systems Laboratories, Inc., Oxford, <sup>®</sup> UK).

A atividade da GPx foi avaliada através de absorvância a 340 nm para medir a oxidação do NADPH na presença de glutaciona reduzida, glutaciona redutase, e terc-butil hidroperóxido (Pinto e Bartley, 1969).

A atividade da CAT foi avaliada pela medida da taxa de consumo de peróxido de hidrogênio via absorvância a 240 nm (Aebi, 1984).

A atividade da SOD total foi baseada em um método espectrofotométrico que monitora a inibição da auto oxidação da epinefrina usando absorvância a 480 nm (Misra e Fridovich, 1972).

Como um índice de danos de proteína, os níveis de carbonil foram medidos usando absorvância a 370 nm (Levine et al., 1990).

### Análise Estatística:

O teste ANOVA com teste de Tukey post hoc foi utilizado para determinar diferenças entre os grupos, e P  $\leq$  0,05 foi definido como o limite crítico. SPSS versão 18,0 .

## Discussão

No presente estudo, mostramos que o envelhecimento e/ou atividade reprodutiva altera os parâmetros oxidativos em rins de ratos machos, indicando um notável aumento nos níveis de dano oxidativo e atividade de defesas antioxidantes em algumas faixas etárias.

Os animais não reprodutores, aos 24 meses de idade apresentaram maior atividade da GPx, GST, e SOD. Essa maior atividade é, provavelmente, uma resposta ao aumento do dano oxidativo que ocorre durante o envelhecimento, ratos reprodutores provavelmente tiveram menos dano porque tinham alto nível de antioxidantes e um aumento na atividade enzimática em idades mais precoces o que teria evitado o dano oxidativo observado no grupo de ratos não reprodutores.

