RATOS WISTAR TRATADOS COM RAÇÃO A BASE DE SOJA

WISTAR RATS TREATED WITH READY TO FEED FROM SOYBEAN

Marcia Silva de Oliveira[1], Juliana Paiva Lins[2], Liliane Moreira Gomes[3], Adelson Alves Machado[4], Darlles Bruno de Sousa Pereira[5], Luiz Gustavo Ferreira Costa[6], Antonio da Costa Cardoso Neto[7]

Abstract — *Isoflavones present in soybeans belong to the family of polyphenols, a large class of substances synthesized by plants. In addition to antioxidant activity, common to the polyphenols, isoflavones by its structural similarity to human estrogen, determine major estrogenic effects and are therefore referred to the phytoestrogens. The purpose of this show the adverse effects of isoflavones on human reproduction due to excessive consumption of soy. The research will use Wistar rats (biological reagents of choice) and food prepared with soy, Given to Them. After continuous administration of that ration, we obtained visible changes in coat, size and behavior of animals. In this way, we hope the results show a correlation between the consumption of soy-based food and pet infertility because they have changed their sexual behavior pattern.*

Index Terms – Isoflavones, polyphenols, phytoestrogens, soybeans, Wistar rats.

INTRODUÇÃO

Assim como existem muitos trabalhos revelando os efeitos benéficos relacionados ao consumo de vários derivados da soja, também é considerável a literatura sobre os potenciais efeitos adversos decorrentes da ingestão de soja e suas isoflavonas. São relatadas interferências no sistema imunológico, alterações na função tireoideana, redução da absorção de vitaminas e minerais, efeitos sobre o processo de mielinização, desencadeamento de câncer e produção de danos no DNA, entre outros [1]-[3].

A fertilidade dos homens é particularmente suscetível a agentes que reduzem o número e a qualidade da produção de espermatozóides. Testes de toxicidade reprodutiva são realizados para determinar os efeitos diretos de uma substância química sobre o processo de reprodução dos mamíferos. Os estudos mais utilizados para estas avaliações são divididos em três segmentos que são adaptados de normas da Environmental Protection Agency (EPA) e recomendadas pela Food and Drugs Administration (FDA) e Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) [4].

Os efeitos adversos mais amplamente documentados são os que indicam as ações sobre a reprodução. Nesse aspecto, a soja e suas isoflavonas são classificadas como compostos com atividade endócrina e por isso são referidas como desreguladores endócrinos [5].

Os fitoestrógenos funcionam como agonistas ou antagonistas estrogênicos. São hormônios agonistas/antagonistas naturais que ocupam destaque no grupo de desreguladores endócrinos. Até o momento, os estudos "in vitro" e "in vivo" não mostraram resultados consistentes e uniformes sobre se os fitoestrógenos poderiam mimetizar as ações estrogênicas em todos os órgãos-alvo [6].

É de fato importante desenvolver tal pesquisa para que se tenha total consciência do uso adequado da soja pela população e o não uso em pessoas propensas a infertilidade.

Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito da soja sobre as alterações morfofisiológicas no sistema reprodutor e endócrino de ratos adultos jovens da linhagem Wistar, cujas mães receberam dieta rica em soja durante o período de prenhez e amamentação, visto que a exposição a esses compostos tóxicos pode causar distúrbios na função endócrina, especialmente durante os estágios iniciais do desenvolvimento [7], com profundos efeitos posteriores [8].

PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

No período compreendido entre o fevereiro a novembro de 2012, avaliaremos os testículos de 21 reagentes biológicos (*Rattus norvegicus*) (QUADRO 1) jovens antes e após administração de dois tipos de ração a base de soja (QUADRO 2) preparadas, no laboratório de Nutrição da

[1]Marcia Silva de Oliveira, General Cordinator and Full Professor of the Paulista University (UNIP) – Campus Brasília. SGAS Block 913, s/n, 70390-130, Asa Sul. Brasília/DF, Brazil. Full Professor of the Integrated Faculty of Central Plateau (FACIPLAC). SIGA Special Area, no. 02, 72460-000, East Sector, Gama/DF, Brazil. Full Researcher of the Center for Studies in Education and Health Promotion, University of Brasilia – NESPROM/UnB. Campus Universitário Darcy Ribeiro s/n, set 07, room 34, 70.910-900, Asa Norte. Brasília/DF, Brazil, professora_df@hotmail.com
[2] Juliana Paiva Lins, Full Professor of the Paulista University (UNIP) – Campus Brasília. SGAS Block 913, s/n, 70390-130, Asa Sul. Brasília/DF, Brazil.
[3] Liliane Moreira Gomes, Biomedical. lilianemgster@gmail.com
[4] Adelson Alves Machado, Biomedical. adelson3d@hotmail.com
[5] Darlles Bruno de Sousa pereira, Biomedical. darllesou@hotmail.com
[6] Luiz Gustavo Ferreira Costa, Biomedical. luiz_gfc@hotmail.com
[7] Antonio da Costa Cardoso Neto, Nurse. Centro Universitário do Maranhão. Rua Josué Montello, nº 01, 65075-120, Renascença II. São Luís/MA, Brasil. cardosoneto.gato@hot mail.com.

DOI 10.14684/WCCA.8.2015.193-196
© 2015 COPEC

Instituição, pelos próprios pesquisadores (QUADRO 3). Todos os reagentes terão entre 1 e 3 meses e seus pesos estarão entre 100 e 150g.

Para alcance e avaliação dos resultados relacionados à fertilidade dos animais, procedemos à contagem dos espermatozóides (espermograma) após coleta direta do epidídimo dos animais.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	
GRUPO 1 –	**CONTROLE (7 animais)**
GRUPO 2 –	**RAÇÃO I (7 animais)**
GRUPO 3 –	**RAÇÃO II (7 animais)**
TOTAL	**21 animais**

QUADRO 1
GRUPOS EXPERIMENTAIS.

QUANTIDADES DE PREPARO	
RAÇÃO I	**RAÇÃO II**
Óleo + Açúcar	Proteína + Fibra
100g de farinha de trigo	70g de milharina
52g de milharina	100g de farinha de trigo
11g de farelo de trigo	45g de farelo de trigo
60g de açúcar	24g de linhaça
22g de óleo de soja	3 ovos inteiros
2 claras	500g de soja em grãos

QUADRO 2
INGREDIENTES DAS RAÇÕES EXPERIMENTAIS, COM SUAS RESPECTIVAS QUANTIDADES.

PROCEDIMENTO PARA O PREPARO DAS RAÇÕES EM LABORATÓRIO
1. Todos os ingredientes apresentados no Quadro 1 serão triturados em liquidificador e misturados até que formem uma massa pastosa no ponto de corte com a faca.
2. Deverão ser diferenciados os dois tipos de ração (Ração I, na forma de bolinhas; Ração II, na forma de cubinhos).
3. Ambas as rações deverão ser colocadas em assadeira e assadas a 180ºC até que fiquem com a mesma consistência rígida da ração padrão (que será oferecida ao grupo controle).
4. Todos os procedimentos, desde a preparação da ração até a administração das rações e observação dos animais serão realizados pelos pesquisadores.

QUADRO 3
MODO DE PREPARO DAS RAÇÕES EXPERIMENTAIS.

O protocolo de pesquisa [9] e os procedimentos realizados seguiram as resoluções do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) [10] para experimentação animal e, também, a Lei que estabelece as Normas para Prática Didático-Científica da Vivissecção de Animais [11].

RESULTADOS

Comprovou-se que o grupo que recebeu as rações preparadas em laboratório, ricas em isoflavonas de soja, tiveram aumento na inviabilidade dos espermatozóides (má formação e baixa quantidade); além alterações comportamentais (feminilização).

As observações morfológicas *in vivo* demonstraram alteração na forma do focinho, no pêlo, no tamanho do corpo (animais de pelo com coloração diferenciada eram maiores) (Figuras 1 a 9).

Após a eutanásia em câmara de CO_2 (houve óbitos apenas dos animais de pelo totalmente branco), nos reagentes que receberam a administração da ração II, pudemos observar quanto à morfofisiologia que houve hipotrofia bilateral testicular acentuada); demora na diferenciação sexual externa; passaram a ter comportamento fisiológico incompatível com o sexo (feminilização). Os animais que receberam a ração I mantiveram normais todas as suas características.

FIGURA 1
MATRIZ ORIGINAL E PRIMEIRA NINHADA (GERAÇÃO) APÓS O USO DA RAÇÃO II.

FIGURA 2
PRIMEIRA NINHADA (GERAÇÃO) APÓS O USO DA RAÇÃO II (UMA ÚNICA FÊMEA QUE SE MANTEVE SEPARADA).

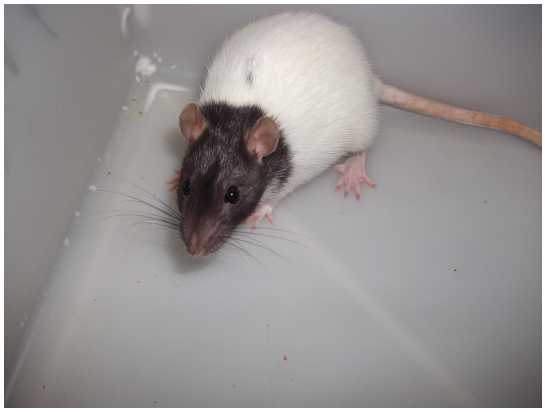

FIGURA 3
SEGUNDA NINHADA (GERAÇÃO) APÓS O USO DA RAÇÃO II (OBSERVA-SE A MUDANÇA DE COLORAÇÃO DO PÊLO).

FIGURA 4
TERCEIRA NINHADA (GERAÇÃO) APÓS O USO DA RAÇÃO II (OBSERVA-SE A MUDANÇA DE COLORAÇÃO DO PELE).

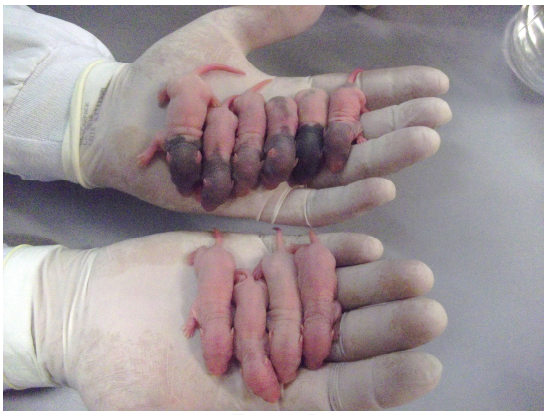

FIGURA 5
TERCEIRA NINHADA (GERAÇÃO) APÓS O USO DA RAÇÃO II (OBSERVA-SE A DIFERENÇA DE TAMANHO E COLORAÇÃO ENTRE OS FILHOTES).

FIGURA 6
QUARTA NINHADA (GERAÇÃO) APÓS O USO DA RAÇÃO II (OBSERVA-SE A DIFERENÇA DE TAMANHO E COLORAÇÃO ENTRE OS FILHOTES).

FIGURA 7
QUARTA NINHADA (GERAÇÃO) APÓS O USO DA RAÇÃO II (OBSERVA-SE A DIFERENÇA DE TAMANHO, COLORAÇÃO E FORMA DO FOCINHO ENTRE OS FILHOTES).

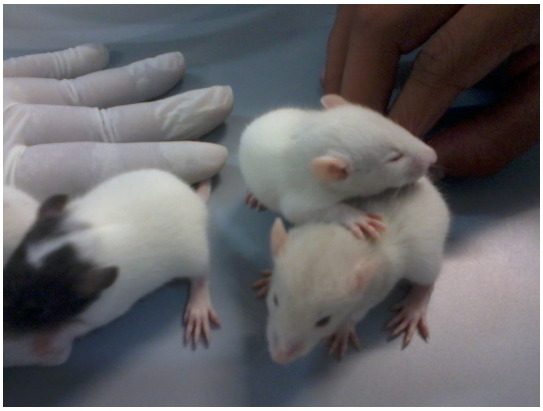

FIGURA 8
QUARTA NINHADA (GERAÇÃO) APÓS O USO DA RAÇÃO II (OBSERVA-SE A DIFERENÇA DE COLORAÇÃO DA PELE E DO PÊLO ENTRE OS FILHOTES).

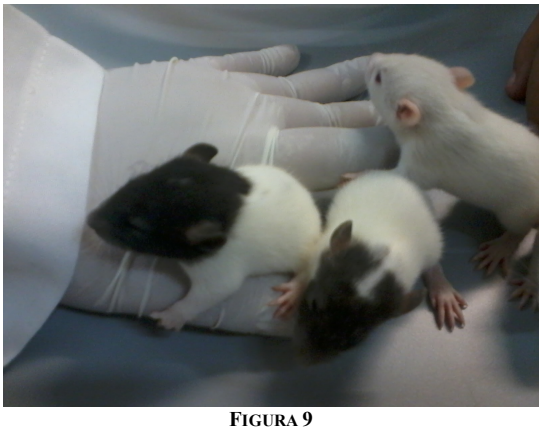

FIGURA 9
QUARTA NINHADA (GERAÇÃO) APÓS O USO DA RAÇÃO II (OBSERVA-SE A DIFERENÇA DE TAMANHO, COLORAÇÃO E FORMA DO FOCINHO ENTRE OS FILHOTES).

Os estudos dos efeitos da ração de soja em animais são de grande importância para gerar dados sobre os efeitos que causam nos seres humanos já que as evidências existentes demonstram que, em geral, os seres humanos e os demais mamíferos respondem de uma maneira muito similar a esses compostos. Além disso, os dados existentes de efeitos sobre os seres humanos apresentam uma perfeita correlação com os efeitos observados em animais de laboratório.

REFERÊNCIAS

[1] ALLRED, C. D. et al. Soy diets containing varying amounts of genistein stimulate growth of estrogen-dependent (MCF-7) tumors in a dose-dependent manner. *Cancer Res*, 61:5045-5050, Julho, 2001.

[2] JU, Y. H. et al. Physiological concentrations of dietary genistein dosedependently stimulate growth of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) tumors implanted in athymic nude mice. *Journal Nutr*, 131:2957-2962, Novembro, 2001.

[3] MARKOVITS, J. et al. Inhibitory effects of the tyrosine kinase inhibitor genistein on mammalian DNA topoisomerase II. *Cancer Res*, 48:5111-5117, Setembro, 1989.

[4] OECD. The Validation of Test Methods Considered for Adoption as OECD Test Guidelines. Paris: Organization for Economic Cooperation and Development, *ENV/MC/CHEM*, 98(6), 1998.

[5] CLAPAUCH, R. et al. Fitoestrogênios: posicionamento do Departamento de Endocrinologia Feminina da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM). *Arq Bras Endocrinol Metab*, 46(6): 679-695, 2002.

[6] WISNIEWSKI, A. B. et al. Exposure to genistein during gestation and lactacion demasculinizes the reproductive system in rats. *Journal of Urol*, 169:1582-1586. Abril, 2003

[7] PRYOR, J.L. et al. Critical windows of exposure for children`s health: the reproductive system in animals and humans. *Environmental Health Perspectives*. 108(3):491-503, 2000.

[8] SANTAMARTA, J. A ameaça dos disruptores endócrinos. *Agroecol. E Desenv. Rur. Sustent.*, 2(3), jul/set. 2001.

[9] OLIVEIRA, M. S. *Protocolo de experimentação animal.* Estágio Supervisionado em Anatomia Microscópica e do Desenvolvimento e Patologias dos Sistemas Orgânicos - Área de concentração: Patologia Geral e Especial. Faculdade Juscelino Kubitscheck (FJK)/Anhanguera Educacional, Distrito Federal, 2009.

[10] COBEA – *Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Princípios éticos na experimentação animal.* Junho de 1991. Disponível em: <http://www.unb.br/ib/ceua/COBEA.htm> Acesso em: 05 de agosto de 2010.

[11] BRASIL. *Norma Regulamentadora nº. 6*. Ministério do Trabalho e Emprego. Disponível em: <http://www.mte.gov.br/seg_sau/leg_epi_nr.asp> Acesso em: 15 nov. 2011.