

# EFEITO DAS ISOFLAVONAS DO LEITE DE SOJA NA CONCENTRAÇÃO HORMONAL OVARIANA DE RATOS WISTAR FÊMEAS OVARICTOMIZADAS UNILATERALMENTE

SANTOS, Marlise Aparecida<sup>1</sup>  
PEREIRA, Francine Martins<sup>2</sup>

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a ação do uso de isoflavonas do leite de soja na concentração hormonal ovariana de ratos Wistar fêmeas ovarictomizadas unilateralmente. Ratas adultas (N=30) divididas em três grupos de 10 animais, sendo grupo controle, grupo castradas, e castradas com reposição. As castradas unilateralmente com reposição receberam leite de soja via oral. Após 58 dias de tratamento, todos os animais foram sacrificados, sangue coletados para a mensuração dos hormônios estrógeno e progesterona por teste de quimiluminescência. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida de teste de Duncan para  $p<0,05$ . Os resultados encontrados para níveis de estrógeno e progesterona nos grupos foram: controle ( $36,70 \pm 0,66$ ;  $5,20 \pm 6,66$ ), castradas ( $30,05 \pm 0,34$ ;  $39,80 \pm 6,66$ ) e castradas com reposição com leite de soja ( $24,51 \pm 2,17$ ;  $6,38 \pm 0,22$ ). Através da condução desta pesquisa pode-se evidenciar perspectivas para orientar quanto aos alimentos derivados de soja enfocando o teor das isoflavonas apresentadas no leite de soja a qual apresenta um aspecto bioativo no organismo que pode estar fazendo um papel de auxílio para os receptores de estrógenos, diminuindo muitas ações causadas na menopausa.

**PALAVRAS-CHAVE:** isoflavonas, TRH, menopausa, leite de soja

## EFFECT OF THE ISOFLAVONAS OF THE MILK OF SOY IN CONCENTRATION HORMONAL OVARIANA OF FEMALE RATS WISTAR OVARICTOMIZADAS UNILATERALLY

## ABSTRACT

This study had as objective unilaterally to evaluate the action of the use of isoflavonas of the milk of soy in the ovarian hormones concentration of ovarictomized female Wistar rats. Adult rats (N=30) you divide in three groups of 10 animals, being group has controlled, group castrated, and castrated with replacement. The castrated ones with replacement had unilaterally received milk from soy saw verbal. After 58 days of treatment, all the animals had been sacrificed, blood collected for the mensuração of hormones estrógeno and progesterone for quimiluminescência test. The gotten results had been submitted to the analysis of variance (ANOVA) followed of test of Duncan for  $p< 0,05$ . The results found for estrogen levels and progesterone in the groups had been: control ( $36,70 \pm 0,66$ ;  $5,20 \pm 6,66$ ), castrated ( $30,05 \pm 0,34$ ;  $39,80 \pm 6,66$ ), and castrated with replacement the milk of soy ( $24,51 \pm 2,17$ ;  $6,38 \pm 0,22$ ). Through the conduction of this research it can be evidenced perspectives to guide how much to foods derived from soy focusing the text of isoflavonas presented in the soy milk which presents a bioactive aspect in the organism that can be playing a role of aid for the receivers of estrógenos, diminishing many actions caused in the menopause.

**KEYWORDS:** isoflavonas, TRH, menopause, milk of soy

## 1. INTRODUÇÃO

Há um número crescente de países, onde as mulheres já vivem mais de um terço de suas vidas no período da pós-menopausa, neste contexto, pelo fato dos possíveis benefícios e efeitos indesejáveis da terapia de reposição hormonal, que falam muito da saúde e da qualidade de vida, que apresentam grande relevância nos anos recentes, pois antigamente as mulheres morriam muito jovens, sem ao menos chegar ao climatério (ARANHA, 2004).

O climatério, período da vida situado entre os 35 e 65 anos, constitui uma transição entre a fase reprodutiva e aquela em que a reprodução natural não é mais possível, diversas mudanças fazem parte desse período, sendo que a menopausa, isto é, a última menstruação, é um evento muito significativo.

Culturalmente, a menopausa representa um marco na determinação de mudanças na vida da mulher, inclusive em seu papel social. Por outro lado, a menopausa propicia sintomas desconfortáveis e aumento na incidência de doenças (FAVARATO, 2011).

Segundo Marques (2002) a menopausa é caracterizada pela suspensão irreversível da função ovariana, com o declínio da secreção dos hormônios sexuais estrógeno e progesterona.

Dentre às mudanças endócrinas em função ao declínio da função ovariana, também acontecem outras, como a mudança biológica, através do declínio da fertilidade no qual a mulher passa do período reprodutivo para o não reprodutivo, destacando as aparentes e relativas mudanças clínicas consequentes das alterações no ciclo menstrual, abrangendo uma variedade de sintomas maléficos, pois a menopausa é o período quando cessam permanentemente as menstruações resultando da perda da atividade folicular ovariana (ZAHAR, 2005).

A terapêutica de reposição hormonal (TRH) vem alcançando importância na atualidade, tornando-se quase um consenso que a mulher após a menopausa deve receber hormônios, pelos benefícios que trazem para a saúde, aliviando o desconforto além de ajudar na prevenção de doenças coronarianas e osteoporose. A forma como os estrogênios são administrados influí em uma série de parâmetros metabólicos (REIS, 2000).

De acordo com Mosquete (2006) o número de mulheres que atingem a pós-menopausa tem se elevado consideravelmente, este fenômeno está relacionado à melhoria de condições de saúde da expectativa de vida através da

<sup>1</sup> Especialista em Docência, Graduada em Ciências Biológicas e Docente na Faculdade Assis Gurgacz- FAG.

<sup>2</sup> Mestre em Fisiologia, Graduada em Ciências Biológicas e Docente na Faculdade Assis Gurgacz – FAG.

terapia de reposição hormonal com o uso dos fitohormônios. Por isso, para diminuir esta expressão são utilizadas as isoflavonas, também chamadas de isoflavonóides são compostos químicos fenólicos, pertencentes à classe dos fitoestrógenos, estão amplamente distribuídos no reino vegetal.

As concentrações deste composto são predominantes nos derivados de soja e apresentam elevado teor protéico, fibra dietética e uma variedade de micronutrientes e compostos fitoquímicos que tem semelhança com o  $\beta$ -estradiol, hormônio feminino (ESTEVES, 2001).

As principais isoflavonas encontradas na soja e em seus derivados são relatadas por Esteves (2001) como a genisteína, daidzeína e gliciteína, as quais apresentam várias formas de conjugados glicosídicos, dependendo da extensão, processamento ou fermentação de como são desenvolvidas. Devido à presença destes compostos bioativos, as isoflavonas têm sido estudadas quanto a seus efeitos biológicos benéficos à saúde humana. Estes compostos apresentam estrutura química similar ao estradiol o principal hormônio feminino, e assim encaixando-se nos receptores do estrógeno, desta forma as isoflavonas apresentam a habilidade de imitar estrógenos.

As isoflavonas são consideradas antioxidantes naturais, desativam radicais livres no organismo, defendendo-o contra ação maléfica desses compostos, os estrogênios vegetais competem com aqueles produzidos pelo corpo ou introduzidos do ambiente e evita que os estrógenos se liguem com as células receptoras, o benefício é que os estrógenos de soja reduzem a absorção e o uso de estrógenos potencialmente perigosos, que influenciam na síntese de proteínas e na diferenciação e proliferação celular promovendo metástases (FERRARI, 2001).

O consumo de proteínas de soja tem sido associado com redução dos riscos cardiovasculares, osteoporose, perfil lipídico, as isoflavonas reduzem os níveis de  $17\alpha$  - hidroxiestrona estimulador do câncer de mama.

Os autores da literatura ressaltam várias hipóteses para diminuição do peso corpóreo, uma delas é o estímulo de secreção de sais biliares e em consequência aumento da taxa de excreção de colesterol, outra hipótese é que moléculas elevam as concentrações de tiroxina livre gerando um leve hipertiroidismo (ARANHA, 2004).

Contudo, a TRH tem suas complicações estropogestativas e alguns autores investigam fármacos que possam oferecer os benefícios semelhantes ao estrogênio no climatério como entre eles o grupo de isoflavonas que podem auxiliar no tratamento sem provocar complicações à saúde humana (PIOVESAN, 2005).

As isoflavonas fitoestrogênicas são hoje as substâncias consideradas como a melhor opção terapêutica entre os fitoestrogênios. Esses alimentos são ricos em componentes ativos com esta capacidade de prevenir e em muitos casos até mesmo controlar doenças, passaram a ser chamados de alimentos funcionais (WOLFF, 2006).

A fitomedicina entrou na vida da mulher com a expectativa de vida superior, e com o desafio de manter o paciente saudável durante todo o período pós-menopausal, permitindo que com isso tenha-se uma reposição hormonal mais adequada sem riscos à saúde feminina.

## **2. METODOLOGIA EXPERIMENTAL**

Foram utilizadas 30 ratas da linhagem Wistar com aproximadamente três meses, com peso corporal entre 180 e 200 gramas. Os animais foram fornecidos pelo biotério setorial da Faculdade Assis Gurgacz – FAG.

Todos os animais foram mantidos em caixas de polietileno com condições de iluminação e ambiente climatizado a 22° C, e mantidos com água e ração padrão ad libitum.

Um grupo de 20 animais foi submetido à cirurgia de ovariectomia unilateral. Após cinco dias do ato cirúrgico, as 20 ratas foram divididas, em dois grupos: o grupo ovariectomia unilateral recebeu apenas água e ração; o grupo ovariectomia unilateral com reposição recebeu leite de soja e ração; e o grupo controle foi o qual não foi submetido à cirurgia e recebeu água e ração durante o tratamento.

As substâncias foram administradas por via oral durante 58 dias consecutivos, em períodos alternados do dia. As soluções foram colocadas na mamadeira de tal maneira que cada animal recebesse 50 ml.

O leite de soja usado no tratamento dos animais apresentava informação nutricional dos seguintes valores energéticos: carboidratos 3, açúcares 8g, lactose 0g, proteínas 5g, gorduras totais 2,8g, gorduras saturadas 0,7g, gorduras trans 0g, gorduras monoinsaturadas 0,8g, gorduras poliinsaturadas 1g, colesterol 0 mg, fibra alimentar 0 g, sódio 91 mg, vitamina A 90  $\mu$ g. vitamina D 0,75  $\mu$ g, e na composição de seus ingredientes apresentava extrato de soja, água, açúcar, sal, óleo vegetal de soja, aromatizante estabilizante: carragenina vitaminas A e D, emulsificantes: lecitina de soja e corantes naturais: círcuma e urucum.

No último dia, após a pesagem todos os animais foram sacrificados por decapitação, sendo o sangue coletado e armazenado em tubos para a determinação de estradiol e progesterona realizadas no Laboratório IBOP na cidade de Cascavel no estado do Paraná.

Em seqüência foram retiradas e pesadas às gorduras peritonais de cada animal. O método empregado para mensuração de estradiol e progesterona foi de quimiluminescência.

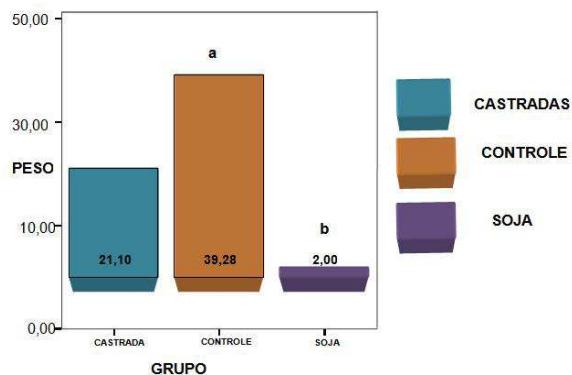
Para analise dos resultados, utilizou-se a analise se variância (ANOVA) seguida de teste de Duncan para  $p<0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 1 PESO CORPORAL

Na figura 1 nota-se que o peso dos animais foi totalmente diferente entre si e que do grupo castrada ( $21,09 \pm 4,28$ ) e grupo castrada com reposição com leite de soja ( $1,99 \pm 0,53$ ) apresentaram diminuição de peso corporal total significantemente relevante ao grupo controle ( $39,27 \pm 2,42$ ). A redução de peso do grupo castrada possivelmente sinaliza a eficiência do modelo de menopausa para animais.

Figura 1. Efeito das isoflavonas do leite de soja sobre o peso corporal total de ratos Wistar fêmeas ovarictomizadas unilateralmente.



O grupo controle obteve média de ( $39,27 \pm 2,42$ ) grupo castrada ( $21,09 \pm 4,28$ ) e grupo leite de soja ( $1,99 \pm 0,53$ ). a, b representam  $p < 0,05$  quando avaliados em testes Duncan.

Segundo Marques (2002) as proteínas da soja estão associadas com a diminuição dos riscos cardiovasculares, osteoporose e perfil lipídico devido a isso as isoflavonas podem auxiliar na diminuição de peso e sem causar danos à saúde.

Para Vasconcellos (2004) se houver privação do estrogênio, o consumo de energia será menor e os animais tendem a aumentar o peso corporal. Este observou ainda que ratas em menopausa e sem reposição hormonal aumentam de peso, quando comparadas àquelas que fazem o uso de hormônios, e neste caso, as ratas que fizeram tratamento com as isoflavonas de leite de soja apresentaram um valor significativo no final do tratamento.

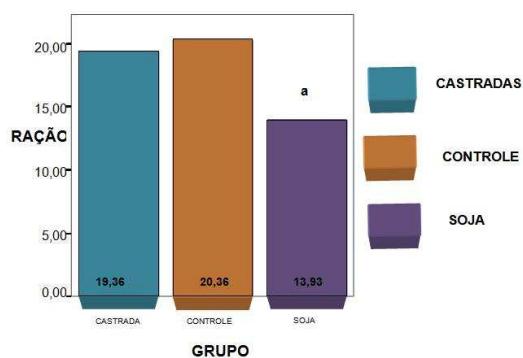
Segundo Clapauch (2002) há efeitos protetores de estrogênio sobre o manifesto de alterações lipídicas, há evidências de que a soja e sua proteína fazem a diminuição de colesterol total e LDL. Pressupõem-se do aumento da degradação e depuração de colesterol através do aumento de secreção biliar.

De acordo com Terpstra (1984) os fitoestrógenos reduzem os níveis de LDL e taxa total de colesterol sanguíneo tanto em animais quanto em humanos. De acordo com Arjmandi (1998) o ganho médio de peso corpóreo é maior em ratas ovarictomizadas, este aumento de peso no período pós-menopausíco é consequência da falta de estrógeno.

#### 3.2 CONSUMO DE RAÇÃO

Na figura 2 o grupo castrada ( $19,36 \pm 0,41$ ) e o grupo castrada com reposição, com leite de soja ( $13,93 \pm 0,67$ ) apresentaram uma quantidade menor de ingesta de ração consumida total em relação ao grupo controle ( $20,35 \pm 0,43$ ).

Figura 2. Efeito das isoflavonas do leite de soja sobre a quantidade total de ração ingerida por ratos Wistar fêmea ovarectomizadas unilateralmente.



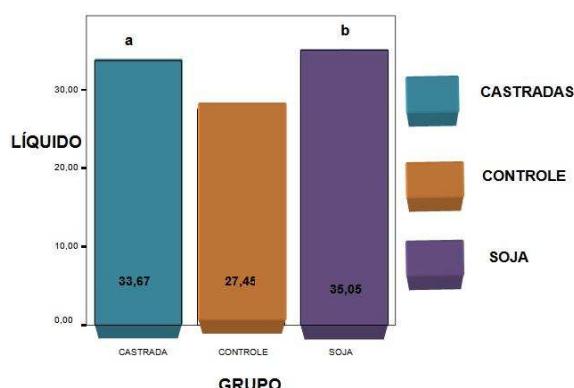
O grupo controle obteve média de  $(20,35 \pm 0,43)$  grupo castrada  $(19,36 \pm 0,41)$  e o grupo leite de soja  $(13,93 \pm 0,67)$  a representa  $p < 0,05$ . a, representam  $p < 0,05$  quando avaliados em testes Duncan.

Segundo (Vasconcellos, 2003) a deficiência do estrogênio faz a redução do nível sérico de leptina e inibição da ingestão de alimentos reduzindo o peso corpóreo.

### 3.3 CONSUMO DE LÍQUIDOS

Na figura 3 o grupo controle  $(27,45 \pm 1,64)$  ingeriu uma quantidade menor de líquidos em relação ao grupo castrada  $(33,67 \pm 3,37)$  ainda em comparação ao grupo castradas com reposição com leite de soja  $(35,05 \pm 4,99)$ . Possivelmente pelo fato do leite de soja ser uma bebida adoçada, os animais ingeriram uma quantidade maior de líquido e ingeriram menor quantidade de ração.

Figura 3. Efeito das isoflavonas do leite de soja sobre a quantidade total de líquidos ingeridos por ratos Wistar fêmeas ovarectomizadas unilateralmente.

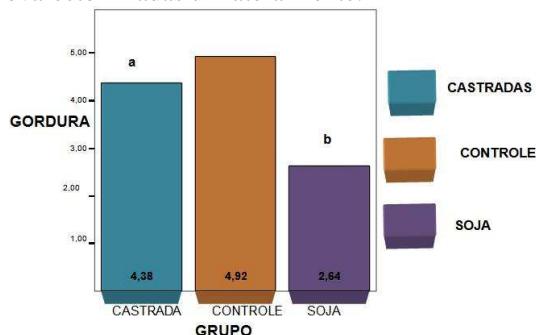


O grupo controle obteve média de  $(27,45 \pm 1,64)$  grupo castrada  $(33,67 \pm 3,37)$  e o grupo leite de soja  $(35,05 \pm 4,99)$  a, b representam  $p < 0,05$  quando avaliados em testes Duncan

### 3.4 PESO TOTAL DA GORDURA PERITONIAL

Na figura 4 o grupo castrada com reposição com leite de soja  $(2,63 \pm 0,27)$  apresentou uma menor quantidade de gordura peritonial em relação ao grupo castrada  $(4,38 \pm 0,24)$  e ao grupo controle  $(4,91 \pm 0,36)$ . Segundo Vasconcellos (2004) a deficiência do estrógeno eleva o depósito adiposo visceral. Como demonstrado neste experimento os animais ovariectomizados e tratados com leite de soja, obtiveram uma redução significativa ( $p < 0,05$ ).

Figura 4. Efeito das isoflavonas do leite de soja sobre o peso total da gordura peritoneal de ratos Wistar fêmeas ovarectomizadas unilateralmente.



O grupo controle obteve média de  $(4,91 \pm 0,36)$  grupo castrada  $(4,38 \pm 0,24)$  e o grupo leite de soja  $(2,63 \pm 0,27)$  a, b representam  $p < 0,05$  quando avaliados em testes Duncan.

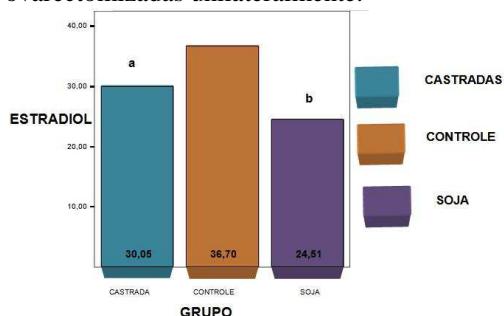
### 3.5 CONCENTRAÇÃO DE ESTRADIOL

Na figura 5 o grupo castradas  $(30,05 \pm 0,34)$  e o grupo castradas com reposição com leite de soja  $(24,51 \pm 2,17)$  apresentaram diminuições significativas nos níveis de estradiol quando comparado ao grupo controle  $(36,70 \pm 0,66)$ . Foi possível analisar que o leite de soja não substitui o hormônio feminino, porém ele auxilia como fitoestrógeno em muitas ações no organismo, pois é considerado um receptor do estrogênio.

De acordo com Totta, 200516 acredita-se que a ação estimulatória das isoflavonas acontece por sua ação no receptor de estrogênio, principalmente pela ativação do receptor beta, este fato ajudaria compreender sua ação no alívio de alguns sintomas climatéricos.

Segundo NAHAS; et al, 200317 as isoflavonas, compostos não-esteróides, parecem ter efeitos hormonais do tipo estrogênio quando ingeridas em doses elevadas, porém encontra-se uma redução nos valores de estrona, sem alterações de estradiol, quando exposto a uma dieta rica em isoflavonas.

Figura 5. Efeito das isoflavonas do leite de soja sobre a concentração de estradiol de ratos wistar fêmeas ovarectomizadas unilateralmente.



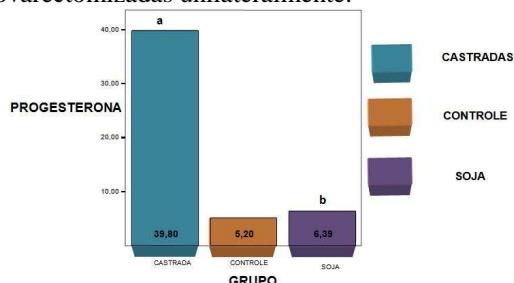
O grupo controle obteve média de  $(36,70 \pm 0,66)$  grupo castrada  $(30,05 \pm 0,34)$  e o grupo leite de soja  $(24,51 \pm 2,17)$  a, b representam  $p < 0,05$  quando avaliados em testes Duncan.

### 3.6 CONCENTRAÇÃO DE PROGESTERONA

Na figura 6 o grupo controle  $(5,20 \pm 6,66)$  e o grupo castradas com reposição com leite de soja  $(6,38 \pm 0,22)$  apresentaram níveis baixos de progesterona em relação ao grupo castrada  $(39,80 \pm 6,66)$  que apresentou um nível anormal no final do tratamento. Foi possível observar que as ratas induzidas a ovariectomia unilateral apresentaram um valor anormal do nível de progesterona.

Segundo Conceição (2005) é certo que durante o ciclo estral de ratas, bem como em outros animais, são observadas fases de atuação do estrógeno (proestro e estro) e da progesterona (metaestro e diestro). Segundo FREEMAN (1994) as diferenças no perfil plasmático da progesterona entre as fases do ciclo nem sempre são observadas, já que a rata possui fase lútea curta. Possivelmente os animais quando exposto à cirurgia encontrava-se em período de ovulação.

Figura 6. Efeito das isoflavonas do leite de soja sobre a concentração de progesterona de ratos wistar fêmeas ovarectomizadas unilateralmente.



O grupo controle obteve média de  $(5,20 \pm 6,66)$  grupo castrada  $(39,80 \pm 6,66)$  e o grupo leite de soja  $(6,38 \pm 0,22)$  a, b representam  $p < 0,05$  quando avaliados em testes Duncan.

#### 4. CONCLUSÃO

Baseado nos resultados conclui-se que o leite fermentado de soja enriquecido com isoflavonas apresenta efeitos benéficos em relação aos sintomas da menopausa podendo estar controlando algumas doenças deste período.

No entanto esses resultados são insuficientes para permitir conclusões definitivas em relação ao uso dessas substâncias para substituir o tratamento convencional da Terapia de Reposição Hormonal (TRH).

#### REFERÊNCIAS

- ARANHA, R. N.; FAERSTEIN, E. AZEVEDO, G. M. et al. Análise de correspondência para avaliação do perfil de mulheres na pós-menopausa e o uso da terapia de reposição hormonal. **Cad. Saúde Pública** 2004.
- ARJMANDI, B. H.; BIRNBAUM, R.; GOYAL, N.V.; et al. S.C. Bone-sparing effect of soy protein in ovarian hormone – deficient rats is related to its isoflavone content. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, p. 1364S-13648S, 1998a.
- CLAPAUCH, R. et al. Fitoestrogênios: posicionamento do Departamento de Endocrinologia Feminina da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM). **Arq Bras Endocrinol Metab** 2002.
- CONCEIÇÃO, A.P.M, BATISTA, A.P.C. et al. Análise Histológica da Endometriose em Ratas Durante as Fases do Ciclo Estral. **Arq. Inst. Biol** 2005.
- ESTEVEZ, E. A.; MONTEIRO, J. B. R. Efeitos benéficos das isoflavonas de soja em doenças crônicas. **Rev. Nutr** 2001.
- FAVARATO, M.E.C. DE S. e ALDRIGHI, J.M. A mulher coronariopata no climatério após a menopausa: implicações na qualidade de vida. **Rev. Assoc. Med.Bras** 2001.
- FERRARI, R., et al. Isoflavonas de Soja – Uma breve Revisão. **Publicatio UEPG – Biological and Health Sciences** 2001.
- FREEMAN, M.E. The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. In: KNOBIL, E.; NEILL, J.D. (Eds). **The physiology of reproduction** 1994.
- LUI, M. C. Y.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M. de et al. Isoflavonas em isolados e concentrados protéicos de soja. **Ciênc. Tecnol. Aliment** 2003.
- MARQUES, D. et al. **Efeitos da isoflavona e estradiol sobre o perfil lipídico (cadioprotetor) em ratas ooforectomizadas como modelo de menopausa.** Universidade Federal do Ceará UFC Departamento de Saúde Materno Infantil 2002.
- MOSQUETTE, R.; GOMES, M. P. C. L., SIMOES, R. S. et al. Efeitos das isoflavonas sobre o miométrio de ratas adultas. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet** 2006.

NAHAS, E. A. P. et al . Efeitos da isoflavona sobre os sintomas climatéricos e o perfil lipídico na mulher em menopausa. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet** 2003.

PIOVESAN, A. C.; SOARES JUNIOR, J. M.; MOSQUETTE, R. et al. Estudo morfológico e molecular da mama de ratas castradas tratadas com isoflavona ou estrogênios. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet** 2005.

REIS, C. M. R. F.; MELO, N. R.; VEZZOZO, D. P. et al. Composição corpórea, distribuição de gordura e metabolismo de repouso em mulheres histerectomizadas no climatério: há diferenças de acordo com a forma da administração do estrogênio. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2000.

TERPSTRA AH, BEYNEN AC. Density profile and cholesterol concentration of serum lipoproteins in experimental animals and human subjects on hypercholesterolaemic diets. **Comp Biochem Physiol B** 1984; 77:523-8. Arjmandi HB, Birnbaum R, Goyal NV, Getlinger

MJ, Juma S, Alekel L, et al. Bone-sparing effect of soy protein in ovarian hormone-deficient rats is related to its isoflavone content. **Am J. Clin Nutr** 1998.

TOTTA P, A. F, VIRGILI F, CASSIDY A, Weinberg PD, Rimbach G, et al. Daidzein-sulfate metabolites affect transcriptional and antiproliferative activities of estrogen receptor-beta in cultured human cancer cells. **J Nutr** 2005.

VASCONCELLOS, L S.; LEITE, J. M.; SABINO, K. R. et al. Influence of oophorectomy on the weight variance in young and adult female rats. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2004.

WOLFF, L. P. G.; MARTINS, M. R.; BEDONE, A. J. et al. Endometrial evaluation in menopausal women after six months of isoflavones. **Rev. Assoc. Med. Bras** 2006.

ZAHAR, S. E. V.; ALDRIGHI, J. M.; PINTO NETO, A. M. et al. Qualidade de vida em usuárias e não usuárias de terapia de reposição hormonal. **Rev. Assoc. Med. Brás** 2005.