



<http://www.seer.ufms.br/index.php/pecibes/index>

*Autor correspondente:
Rodrigo Juliano Oliveira,
Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul-UFMS. E-mail:
rodrigo.oliveira@ufms.br

Efeitos da suplementação de *Avena sativa L.* no desenvolvimento ponderal, desempenho reprodutivo e desenvolvimento embriofetal de ratas grávidas expostas à ciclofosfamida

Effects of *Avena sativa L.* supplementation on ponderal development, reproductive performance and embryo-fetal development of pregnant rats exposed to cyclophosphamide

Rodrigo Juliano Oliveira^{1,2,3*}, Luciano dos Santos Fronza⁴, Rosa Elaine Ronda⁴, Márcio Thomas de Aquino⁴, Juliana Miron Vani^{1,2}, Lucas Roberto Pessatto^{1,2}, Silvia Cordeiro das Neves^{1,2}, João Renato Pesarini³, Andreia Conceição Milan Brochado Antonioli Silva^{1,3}

¹Centro de Estudos em Células Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica, Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

²Programa de Mestrado em Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

³Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região CentroOeste, Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandetta, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

⁴Centro Universitário Filadélfia, Londrina, PR, Brasil.

Resumo

Alimentos funcionais ricos em β -glucanas podem associar-se com atividades biológicas tais como a prevenção de danos mutagênicos e alterações no desempenho reprodutivo e desenvolvimento embriofetal. Frente ao exposto a presente pesquisa avaliou os efeitos da suplementação de *Avena sativa L.* no desenvolvimento ponderal, desempenho reprodutivo e desenvolvimento embriofetal de ratas prenhas expostas à ciclofosfamida. Os resultados indicaram que a suplementação com farelo de aveia é capaz de reduzir o ganho de peso durante a gestação. Mas não interfere no desempenho reprodutivo e desenvolvimento embriofetal. Verificou-se ainda que a suplementação com farelo de aveia não é capaz de prevenir os efeitos adversos causados pela administração da ciclofosfamida. Assim, sugere-se que a biodisponibilidade de β -glucana, na suplementação proposta, não é suficiente para determinar melhorias nos parâmetros reprodutivos pesquisados

Abstract

Functional foods containing β -glucans may be associated with biological activities such as the prevention of mutagenic and reproductive alterations. Based on these facts, the present study aimed to evaluate the reproductive performance, embryo development and weight gain of rats exposed to cyclophosphamide and supplemented with *Avena sativa L.* (oat bran). Results showed that the supplementation with oat bran reduced weight gain during pregnancy without interfering in the reproductive performance/embryo development. Also, oat bran was found to be unable to protect the adverse effects caused by the administration of cyclophosphamide. Thus, it is suggested that the bioavailability of β -glucan on the supplementation protocols utilized was not sufficient to determine improvements on the reproductive parameters investigated.

Palavras-chave: Poaceae; malformação; teratogênese; alimento funcional; aveia.

Key-words: Poaceae; malformation; teratogenesis; functional food; oats.

1. Introdução

Mutagênese, teratogênese e carcinogênese são eventos que possuem clara relação. Assim, infere-se que mudanças no material genético (mutações) podem ocasionar alterações fenotípicas que se expressam como teratogênese e/ou carcinogênese. Uma série de agentes pode aumentar as taxas de mutações, elevando a probabilidade para o desenvolvimento desses eventos. Dentre os agentes citam-se (I) a temperatura; (II) os vírus ou transposons (elementos genéticos que se transferem por via infecciosa de um genoma a outro); (III) outros genes; (IV) as radiações; e (V) as substâncias químicas (Salzano, 2002) e dentre elas as drogas antitumorais e imunossupressoras como é o caso da ciclofosfamida (Oliveira et al., 2009).

A β -glucana é um polissacarídeo extraído da parede celular de fungos e cereais. A extração deste polissacarídeo de fungos produz um esqueleto central linear de moléculas de D-glicose ligadas na posição β -(1 \rightarrow 3) contendo cadeias laterais de glicose (ligação β -1 \rightarrow 6) de tamanhos variados que ocorrem em diferentes intervalos ao longo do esqueleto central (Di Luzio et al., 1979). Já as β -glucanas que têm sua origem em cereais são polissacarídeos de resíduos de glicose com ligações β (1 \rightarrow 3) e β (1 \rightarrow 4) (Tohamy et al., 2003).

Estudos recentes tanto in vivo quanto in vitro, com diferentes β -glucanas, demonstram sua eficácia na prevenção de efeitos mutagênicos causados por agentes tais como o peróxido de hidrogênio (Slamenova et al., 2003; Angeli et al., 2006¹), doxorrubicina (Lin et al., 2004) ciclofosfamida (Chorvatovicova et al., 1996; Chorvatovicova et al., 1998; Tohamy et al., 2003; Oliveira et al., 2009; Oliveira et al., 2013; Oliveira et al., 2014a), metilmetasulfonato (Oliveira et al., 2006; Angeli et al., 2006b; Oliveira et al., 2007), 2-aminoantraceno (Oliveira et al., 2006; Angeli et al., 2006b) e 3-amino-1-metil-5H-pirido[4,3-b]índole (Angeli et al., 2006¹). No entanto, somente um estudo demonstrou a capacidade da β -glucana em prevenir alterações no desenvolvimento embriofetal. Segundo Oliveira et al. (2009) apesar da baixa eficiência da β -glucana em prevenir teratogênese, esse polissacarídeo é eficiente em melhorar o desempenho reprodutivo de camundongos fêmeas tratadas com ciclofosfamida principalmente por reduzir a taxa de perdas gestacionais e por consequência aumentar a viabilidade fetal.

Diante da escassez de dados sobre a capacidade da β -glucana e/ou de alimentos funcionais, contendo a mesma, prevenir teratogênese; a presente pesquisa teve por objetivo avaliar os efeitos da suplementação de *Avena sativa* L. no desenvolvimento ponderal, desempenho reprodutivo e desenvolvimento embriofetal de ratas prenhas expostas à ciclofosfamida.

2. Material e Métodos

2.1. Agente Químico

Para a indução de teratogênese utilizou-se o agente alquilante, de ação indireta, ciclofosfamida (Fosfaseron®), na concentração final de 40mg/Kg de peso corpóreo (p.c.) via intraperitoneal (i.p.), diluído em solução tampão fosfato (PBS), livre de Ca e Mg, pH 7,4.

2.2. Animais e Delineamento Experimental

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar de ambos os sexos (40 fêmeas e 20 machos), em idade reprodutiva, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina. O experimento foi conduzido no Biotério de Nutrição Experimental do Centro Universitário Filadélfia. Os animais foram mantidos em caixas metabólicas, em dupla no caso das fêmeas e isolados no caso dos machos. Passaram por um período mínimo de adaptação correspondente a sete dias. A luminosidade e temperatura foram controladas utilizando-se, para tanto, fotoperíodo de doze horas (12 horas de claro: 12 horas de escuro) com temperatura mantendo-se em torno de 22 \pm 2°C. Os animais receberam água filtrada e ração, ad libitum.

As fêmeas foram pareadas com os machos na proporção de 2:1 em cruzamento overnight. A detecção da prenhez foi feita por meio da observação de espermatozoides em lâminas de esfregaço vaginal, sendo este dia considerado o dia zero de gestação.

Os animais dos grupos G1 e G2 receberam ração comercial por 15 dias anteriores ao início dos acasalamentos e durante todo o período gestacional. Já os animais dos grupos G3 e G4 receberam ração comercial suplementada com 15% de farelo de *Avena sativa* L. (aveia comum) (SL Alimentos®) pelo mesmo período dos grupos anteriores. No 10º dia gestacional as fêmeas de G1 e G3 receberam PBS (intraperitoneal - i.p.) no volume de 0,1ml/100g (p.c., i.p.) e os grupos G2 e G4 receberam ciclofosfamida na concentração de 40mg/Kg (p.c., i.p.).

O período gestacional prolongou-se até o 20º dia, quando as fêmeas foram submetidas à eutanásia, por deslocamento cervical, para a realização das laparatomias, já que recém-nascidos malformados ou com baixa viabilidade são frequentemente canibalizados pelas genitoras (Oliveira et al., 2014b).

Procedeu-se, então, a ooforectomia, histerectomia e onfalectomia, registrando-se número de corpos lúteos, sítios de implantação, presença de reabsorções, número de fetos vivos e mortos, peso fetal e placentário. Fez-se ainda uma análise sistemática para detecção de malformações externas e sexagem. Com estes dados calculou-se os parâmetros ao desempenho reprodutivo: Taxa de perdas pré-implantacional (nº de corpos lúteos - nº de implantações x 100 / nº corpos lúteos); Taxa de reabsorção (nº de reabsorções x 100 / nº de implantações); Taxa de perdas pós-implantacional (nº de implantações - nº de fetos vivos x 100 / nº de implantações); Taxa de malformações externas (nº de fetos malformados x 100 / nº fetos analisados).

Fez-se também a adequação do peso à idade da prenhez segundo a metodologia de Oliveira et al. (2009) e Oliveira et al. (2015). Para estes autores, os fetos podem ser classificados como: fetos com peso adequado para a idade gestacional (PAIG) – peso compreendido entre a média de peso dos fetos do grupo controle mais ou menos o desvio padrão; fetos com baixo peso para a idade gestacional (BPIG) – peso inferior à média de peso dos fetos do grupo controle menos o desvio padrão deste mesmo grupo; e fetos acima do peso para a idade gestacional (APIG) – peso superior à média do peso dos fetos do grupo controle mais o desvio padrão deste mesmo grupo.

Para a comparação dos resultados quantitativos foram utilizados testes paramétricos e não paramétricos

(ANOVA, Kruskal-Wallis), conforme a natureza da distribuição dos dados. Os dados qualitativos e as frequências obtidas, conforme recomenda a literatura especializada (Manson et al., 1982; Hanseman e Hogan, 1995), tiveram a ninhada utilizada como unidade-base. Em todos os casos, quando $p < 0,05$, a diferença foi considerada estatisticamente significativa.

3. Resultados

A Tabela 01 apresenta os dados referentes aos parâmetros relativos ao desenvolvimento ponderal materno, desempenho reprodutivo e desenvolvimento embriofetal das fêmeas pertencentes aos diferentes grupos experimentais.

Tabela 01 – Parâmetros relativos ao desenvolvimento ponderal materno, crescimento fetal intra-uterino e performance reprodutiva:

Parâmetros	Grupo 01	Grupo 02	Grupo 03	Grupo 04
Peso Inicial¹ (g)	$223,78 \pm 9,97^a$	$224,80 \pm 7,56^a$	$210,67 \pm 18,14^a$	$216,86 \pm 10,95^a$
Peso Dia Zero¹ (g)	$268,00 \pm 25,32^a$	$262,40 \pm 21,88^{a,b}$	$238,44 \pm 18,08^b$	$238,00 \pm 11,43^b$
Peso Final¹ (g)	$355,00 \pm 29,87^a$	$290,83 \pm 36,53^b$	$277,00 \pm 39,89^b$	$225,43 \pm 23,32^c$
Ganho Peso¹ (g)	$95,78 \pm 19,96^a$	$24,60 \pm 28,44^{b,c}$	$39,22 \pm 36,54^b$	$-12,57 \pm 18,75^c$
Peso do útero¹ (g)	$54,84 \pm 14,09^a$	$11,68 \pm 20,26^{a,b}$	$60,62 \pm 65,19^a$	$0,75 \pm 0,20^b$
Ganho de Peso Líquido¹ (g)	$40,94 \pm 21,27^a$	$12,92 \pm 20,08^a$	$-21,40 \pm 81,40^a$	$-13,32 \pm 18,77^a$
Peso Fetal¹ (g)	$3,64 \pm 0,80^a$	$2,61 \pm 1,18^b$	$3,07 \pm 0,24^a$	-
Comprimento Fetal¹ (cm)	$3,46 \pm 0,32^a$	$3,12 \pm 0,42^a$	$3,44 \pm 0,23^a$	-
Peso Placentário¹ (g)	$0,47 \pm 0,06^a$	$0,39 \pm 0,15^a$	$0,44 \pm 0,05^a$	-
Taxa Perdas Pré Implantação² (%)	$16,55 \pm 23,13^a$	$19,96 \pm 27,43^a$	$26,05 \pm 30,80^a$	$6,82 \pm 11,66^a$
Taxa de Reabsorção² (%)	$4,17 \pm 10,21^a$	$84,85 \pm 37,11^b$	$0,00 \pm 0,00^a$	$100,00 \pm 0,00^b$
Taxa Perdas Pós-Implantação² (%)	$4,17 \pm 10,21^a$	$84,85 \pm 37,11^b$	$0,00 \pm 0,00^a$	$100,00 \pm 0,00^b$
Taxa de Malformação (%)	0,00	100,00	0,00	-
Taxa de Malformação Visceral (%)	0,00	100,00	0,00	-
Adequação do Peso à idade gestacional		BPIG	PAIG	-

de aveia + ciclofosfamida apresentou a menor média de peso final.

O ganho de peso indicou diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes grupos, exceto entre G2 e G3. O maior ganho de peso foi evidenciado em G1 seguido por G3, G2 e G4, respectivamente, sendo o ganho de peso negativo no caso de G4, o que evidencia de fato redução do peso.

O peso do útero de G4 apresentou diferença estatisticamente significativa se comparado ao peso do útero do grupo controle (G1) e em G2 houve uma tendência à redução. No entanto, o ganho de peso líquido não apresentou o mesmo comportamento, pois não houve diferenças

A análise estatística dos pesos maternos indicou que os animais iniciaram o experimento com pesos semelhantes. Quando avaliado o dia zero de gestação verificou-se que os dois grupos suplementados com farelo de aveia tiveram redução ($p < 0,05$) do ganho de peso nos primeiros 15 dias de experimento.

A análise do peso no 20º dia gestacional (peso final) indicou que G1, grupo no qual os animais receberam ração comercial, apresentou a maior média, sendo esta estatisticamente diferente de todos os outros grupos. Os grupos G2 e G3, animais que receberam ração comercial + ciclofosfamida e ração comercial suplementada com 15% de farelo de aveia + PBS, respectivamente, apresentaram médias semelhantes e diferentes de G4. Este último grupo, suplementado com ração comercial com 15% de farelo de

significativas entre os diferentes grupos experimentais.

O peso fetal indicou diferença estatisticamente significativa quando comparados os grupos G1 e G3 ao G2.

Em relação ao comprimento fetal e peso placentário não houve diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos experimentais avaliados. Os animais de G4 não tiveram fetos viáveis, logo os parâmetros anteriormente descritos não foram avaliados para este grupo.

As taxas de perdas pré-implantacionais foram semelhantes entre todos os grupos. As taxas de perdas pós-implantacionais e reabsorções foram idênticas e houve diferenças significativas entre os grupos que receberam ciclofosfamida e os demais. Não ocorreram malformações

em G1 e G3, e a taxa de malformações em G2 foi de 100%.

Quando realizada a adequação do peso à idade gestacional verificou-se que somente G2 teve fetos abaixo do peso adequado para a idade gestacional.

4. Discussão

Estudos apontam que o aumento da ingestão de alimentos naturais está diretamente relacionado à diminuição do risco do desenvolvimento de cânceres e de outras patologias (Weisburger, 2000; Ferrari e Torres, 2002) que estão associadas a danos no DNA. Diante deste fato, as pesquisas em genética toxicológica visam avaliar os efeitos genotóxicos e mutagênicos de xenobióticos, bem como encontrar novas substâncias, presentes nas dietas, por exemplo, com efeitos quimioterapêuticos e que possam amenizar esses efeitos adversos bem como tenham a capacidade de prevenir danos ao desenvolvimento embriofetal (Oliveira et al., 2009).

Dentre os componentes destas dietas estão alguns produtos que compõem a classe das fibras alimentares ricos em β -glucanas. Estas são componentes das paredes celulares de diversos organismos sendo um dos polissacarídeos mais encontrados na parede celular da aveia (Oliveira et al. 2006; Oliveira et al., 2007).

Atualmente estão descritos inúmeros efeitos biológicos das β -glucanas. Estas podem agir por meio da estimulação do sistema imune do hospedeiro exercendo um efeito benéfico sobre uma variedade de infecções de origem bacteriana (Tzianabos e Cisneros, 1996), viral (Reynolds et al., 1980), fúngica (Meira et al., 1996) e parasitária (Holbrook et al., 1981). Este composto também está descrito como modulador tanto da imunidade humoral quanto da celular (Patchen e Mac Vittie, 1983; Soltys et al., 1994; Falch et al., 2000; Tokunaka et al., 2000; Takahashi et al., 2001; Kubala et al., 2003) sendo sua eficiência comprovada em infecções, tumores (Maeda et al., 1996; Kogan et al., 2002) e como estimulador da hematopoiese (Patchen e Mac Vittie, 1985; Hofer e Pospisil, 1997). Existem relatos a respeito da ativação de macrófagos (Tsiapali et al., 2001), neutrófilos (Rankin et al., 1990) e células Natural Killer (Di Renzo et al., 1991) e por isso é considerada uma candidata promissora como agente imunoestimulatório para pacientes imunocomprometidos ou infectados por bactérias multidroga-resistentes.

Junto à genética toxicológica registra-se que β -glucana apresenta atividade antimutagênica, antigenotóxica in vitro (Slamenová et al., 2003; Oliveira et al., 2006; Angeli et al., 2006a; Oliveira et al., 2007, Angeli et al., 2009a,b) e in vivo (Chorvatovicová et al., 1996; Charvatovicová et al., 1998; Tohamy et al., 2003; Lin et al., 2004; Oliveira et al., 2009; Oliveira et al., 2013; Oliveira et. Al. 2014a); além de possuir capacidade de aumentar a viabilidade fetal e reduzir as taxas de perda pósimplantacional e reabsorção demonstrando assim uma melhora do desempenho reprodutivo de fêmeas de camundongos. No entanto, este polissacarídeo não previne, de forma significativa, malformações congênitas induzidas pela ciclofosfamida (Oliveira et al., 2009).

Segundo Oliveira et al. (2006, 2007) a β -glucana possui dois diferentes modos de ação antimutagênicos.

Logo, acredita-se que este polissacarídeo possa agir tanto por desmutagênese quanto por bioantimutagênese. Devido a este fato optou-se pela suplementação da aveia, rica em β -glucana, no período anterior e durante a gestação. Logo, antes, simultaneamente e após a administração da ciclofosfamida. Desta forma, esperava-se que a atividade da β -glucana fosse maximizada visto que as substâncias desmutagênicas são capazes de impedir a ação dos agentes indutores de danos no DNA, principalmente por adsorção (Kada et al., 1982; Kada e Shimo, 1987; De Flora, 1998). Esse modo de ação poderia ser ainda favorecido pelo fato da β -glucana apresentar características de fibra alimentar e ainda estar associada à aveia, ou seja, o xenobiótico poderia ser adsorvido pela fibra e assim seria mais facilmente eliminado pelas fezes (Ishii et al., 2011; Mauro et al., 2013; Pesarini et al., 2013; Navarro et al., 2015). Já as substâncias bioantimutagênicas, em geral, atuam como moduladoras do reparo e replicação do DNA (Kada et al., 1982; Kada e Shimo, 1987; De Flora, 1998). Essas duas ações conjuntas poderiam favorecer a prevenção de danos ao desempenho reprodutivo e desenvolvimento embriofetal. Esses fatos suportam o delineamento experimental realizado.

Na presente pesquisa observou-se que a suplementação de aveia, rica em β -glucana, por 15 dias foi eficiente em reduzir de forma estatisticamente significativa o peso das fêmeas anteriormente ao início do período gestacional. Este resultado remete à capacidade das fibras possuírem (I) a capacidade de formar géis no estômago, (II) aumentar o volume do bolo alimentar, (III) causar a sensação de saciedade, (IV) provocar a redução da ingestão (Raupp e Sgarbieri, 1997; Krotkiewski, 1984; Davies et al., 1991); (V) diminuir o tempo de esvaziamento gástrico e (VI) aumento do trânsito intestinal (Tungland e Meyer, 2002). A fibra ainda pode se complexar com componentes da dieta e/ou xenobióticos impedindo a absorção destes evidenciando também esse efeito benéfico (Walker, 1975; Cummings, 1978; Toma e Curtis, 1986; Davies et al., 1991; Oliveira et al., 1991; Raupp e Sgarbieri, 1996) na eliminação de xenobióticos, antinutrientes e/ou outros componentes da dieta.

Deve-se destacar ainda que a suplementação previamente à gestação do farelo de aveia não secorrelacionou a nenhuma alteração na taxa de perdas pré-implantacionais o que reforça a segurança em se fazer o consumo deste alimento durante o período pré- e perigestacional.

O peso no vigésimo dia de gestação e ganho de peso líquido indicou que os animais do G1 tiveram maior peso ao final do período gestacional porque estes não foram suplementados com farelo de aveia e não foram tratados com ciclofosfamida. É válido salientar que o primeiro parâmetro, suplementação de fibra, como discutido anteriormente relaciona-se à perda de peso por diversos mecanismos que envolvem a ingestão de fibras solúveis, e o segundo, administração de ciclofosfamida, pode determinar além de toxicidade materna o não desenvolvimento da prole das ratas. Este fato também corroboraria o menor ganho de peso das fêmeas prenhas tratadas com esse quimioterápico.

O desenvolvimento ponderal semelhante de G2 e G3 apesar de não terem recebido os mesmos tratamentos, no primeiro caso, pode ser devido ao tratamento com ciclofosfamida que determinou o não desenvolvimento adequado dos fetos e com isso houve menor ganho de peso.

Já no G3 como todos os fetos se desenvolveram adequadamente o menor ganho de peso deve-se somente à suplementação de aveia. Já em G4 onde não houve ganho de peso e sim redução, pode-se inferir que foi devido à administração de ciclofosfamida que determinou aumento das taxas de perdas pós-implantacional e reabsorção que foram de 100%. Além disso, a ciclofosfamida pode ter causado toxicidade materna o que levaria a diminuição de peso. Essa redução ainda pode ainda ser reforçada pela suplementação de aveia. Assim, infere-se que a suplementação de aveia não foi capaz de exercer, eficientemente, atividade desmutagênica, bioantimutagênica e nem foi capaz de adsorver e/ou auxiliar na eliminação da ciclofosfamida e/ou de seus metabólitos.

Logo, a suplementação do farelo de aveia na forma proposta não biodisponibiliza quantidades suficientes de β -glucana para que este polissacarídeo tenha a capacidade de modular a desempenho reprodutivo e/ou desenvolvimento embriofetal como sugerido por Oliveira et al. (2009).

Os pesos dos úteros não permitem nenhuma nova interpretação em relação ao já exposto. Mas, esses dados corroboram para a discussão já apresentada para o desenvolvimento ponderal das ratas.

Quando avaliado o peso do feto verificou-se que somente aqueles de animais tratados com ciclofosfamida foram menores. Já quando comparados os fetos de fêmeas que não receberam ciclofosfamida, mas que foram suplementados com ração comercial ou ração comercial mais aveia não houve nenhuma diferença significativa. Isto sugere que a ingestão de aveia pode interferir no ganho de peso materno, mas não no fetal. Reforçam este fato os comprimentos fetais e pesos placentários que não indicaram diferenças entre os grupos.

Em geral, fetos mal nutridos, estão associados a aumento do peso placentário na tentativa de se disponibilização de maiores quantidades de nutrientes de forma que se busque o desenvolvimento fetal adequado. No entanto, nem mesmo no grupo que recebeu ciclofosfamida este fato foi verificado. Mas, eventos como esses são comuns em estudos com ratas diabéticas (Eriksson et al., 1982; Uriu-Hare et al., 1985; Eriksson et al., 1989; Giavini et al., 1986).

A ausência de malformações nos grupos G1 e G3 indicam que a suplementação de aveia não se correlaciona ao desenvolvimento adverso da prole de ratas visto que a comparação entre os grupos não demonstrou diferenças. As malformações encontradas em G2 são aquelas esperadas para a prole de ratos tratados com ciclofosfamida. As mesmas malformações também foram descritas por Oliveira et al. (2009). No entanto, a eficácia da β -glucana não foi observada como descrita pelo mesmo autor. Diferente do que foi apresentado pela literatura pertinente a β -glucana, presente na aveia segundo a suplementação proposta, não é eficiente em melhorar a desempenho reprodutivo e o desenvolvimento embriofetal. Contrário a isso, foi observado um quadro pior do desenvolvimento embriofetal visto que em G4 não houve registro de fetos vivos demonstrando assim aumento nas taxas de perdas pós-implantacional e reabsorção e decréscimo da viabilidade fetal.

Este estudo não é conclusivo. No entanto, os dados são pioneiros e demonstram que alimentos funcionais, ricos em aveia e/ou em β -glucana, não são adequados para a prevenção de alterações no desempenho reprodutivo e no desenvolvimento embriofetal de fêmeas expostas à

ciclofosfamida.

Declaração: Os autores declaram estar cientes e terem atendido integralmente às normas preconizadas para as pesquisas experimentais de acordo com a Declaração Universal do Direito dos Animais. Os autores declaram ainda ausência de conflito de interesse.

5. Referências

- Angeli JPF, Ribeiro LR, Bellini MF, Mantovani MS. Anticlastogenic effect of β -glucan extracted from barley towards chemically induced DNA damage in rodent cells. *Human & Experimental Toxicology*, 25, 319-324, 2006a.
- Angeli JPF, Ribeiro LR, Gonzaga ML, Soares SA ; Ricardo MPS, Tsuboy M, Stidl R, Knacmuller S, Linhares REC, Mantovani MS. Protective effects of β -glucan extract ed from Agaricus brasiliensis again stchemic all y induced DNA damage in human lymphocytes. *Cell Biology and Toxicology*, 22, 285-291, 2006b.
- Angeli JP, Ribeiro LR, Angeli JL, Mantovani MS. Protective effects of beta-glucan from barley against benzo[a]pyrene-induced DNA damage in hepatic cell HepG2, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61, 83-89, 2009a.
- Angeli JP, Ribeiro LR, Bellini MF, Mantovani MS. Beta-glucan extracted from the medicinal mushroom Agaricus blazei prevents the genotoxics effects of benzo[a]pyrene in the human hepatoma cel line HepG2. *Archives of Toxicology*, 83, 81-86, 2009b.
- Chorvatovicová D, Machová E, Sandula J. Effect of ultrasonicated carboxymethylglucan on cyclophosphamide induced mutagenicity, *Mutation Res.* 371, 115-120, 1996.
- Chorvatovicová D, Machová E, Sandul J. Ultrasonication: the way to achieve antimutagenic effect of carboxymethyl-chitinglucan by oral administration, *Mutation Res.* 412, 83-89, 1998.
- Cummings JH. Nutritional implications of dietary fiber, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 31, 21-29, 1978.
- Davies JR, Brown JC, Livesey G. Energy values and energy balance in rats fed on suplements of guar gum or cellulose, *The British Journal of Nutrition*, 65, 415-433, 1991.
- De Flora S. Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis, *Mutation Res.* 402, 151-158, 1998
- Di Luzio NR, Williams DL, McNamee RB, Edwards BF, Kitahama A. Compartive tumor-innhibitory and anti-bacterial activity of souble and particulate glucana, *International Jorunal of Cancer*, 24, 773-779, 1979.
- Di Renzo L, Yefenol E, Klein E. The function of human NK cells is enhanced by β -glucan, a ligand of CR3 (CD11b/CD18), *European Journal of Immunology*, 21, 1755-1758, 1991.
- Eriksson UJ, Dahlström E, Larsson KS, Hellerström, C. Increased incidence of congenital malformations in the offspring of diabetic rats and their prevention by maternal insulin therapy, *Diabetes*, 31, 1-6, 1982.
- Eriksson RSM, Thunberg L, Eriksson UJ. Effects of

- interrupted insulin treatment on fetal outcome of pregnant diabetic rats, *Diabetes*, 38, 764-772, 1989.
- Falch BH, Espevik T, Ryan L, Stokke BT. The cytokine stimulating activity of (1→3)- β -D-glucans is dependent on the triple helix conformation, *Carbohydrate Research*, 329, 587-596, 2000.
- Ferrari CKB, Torres EA. New dietetic compounds with anticarcinogenic properties. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 48, 375-382, 2002.
- Giavini E, Broccia ML, Prati M, Roversi GD, Vismara C. Effects of streptozotocin-induced diabetes on fetal developmental of the rat, *Teratology*, 34, 81-88, 1986.
- Hanseman JK, Hogan MD. Selection of the experimental unit in teratology studies, *Teratology*, 12, 165-172, 1995.
- Hofer M, Pospisil M. Glucan as stimulator of hematopoiesis in normal and gamma-irradiated mice. A survey of the authors' results, *International Journal of Immunopharmacology*, 19, 607-609, 1997.
- Holbrook TW, Cook JA, Parker BW. Immunization against *Leishmania donovani*: glucan as an adjuvant with killed promastigotes, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 30, 762-768, 1981.
- Ishii PL, Prado CK, Mauro MO, Carreira CM, Mantovani MS, Ribeiro LR, Dichi JB, Oliveira RJ. Evaluation of *Agaricus blazei* in vivo for antigenotoxic, anticarcinogenic, phagocytic and immunomodulatory activities, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 59, 412-422, 2011.
- Raupp DS, Sgarbieri VC. Efeito da fibra solúvel de alta viscosidade na ingestão de alimentos, na excreção fecal e no peso corpóreo, em ratos. *Braz Arch Biol Technol*, 40, 863-874, 1997.
- Reynolds JA, Kastello MD, Harrington DG, Crabs CL, Peters CJ, Jemski JV, Scott GH, Di Luzio NR. Glucan-induced enhancement of host resistance to selected infectious diseases. *Infection and Immunity*, 30, 51-57, 1980.
- Salzano FM. Public health in the First and Third Worlds: challenges and perspectives. *Ciências & Saúde Coletiva* 7(1), 7-16, 2002.
- blazei in vivo for antigenotoxic, anticarcinogenic, phagocytic and immunomodulatory activities, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 59, 412-422, 2011.
- Kada T, Inoue T, Namiki N. Environmental desmutagens and antidesmutagens. In: KLEKOWSKI. E.J.. ed. *Environ Mutag Plant Biol*. New York: Praeger p.137-151, 1982.
- Kada T, SHIMOI K. Desmutagens and bio-antimutagens: Their modes of action, *Bio Essays*, 7, 113-115, 1987.
- Kogan G, Sandula J, Korolenko TA, Falameeva OV, Poteryaeva ON, Zhanaeva SY, Levina OA. Increased efficiency of lewis lung carcinoma chemotherapy with a macrophage stimulator – yeast carboxymethyl glucan, *International Journal of Immunopharmacology*, 2, 775-781, 2002.
- Krotkiewski M. Effect of guar-gum on body weight, hunger ratings and metabolism in obese subjects, *The British Journal of Nutrition*, 52, 97-105, 1984.
- Kubala L, Ruzickova J, Nickova K, Sandula J, Ciz M, Lojek A. The effect of (1→3)- β -D-glucans, carboxymethylglucan and schizophyllan on human leukocytes in vitro, *Carbohydrate Research*, 338, 2835-2840, 2003.
- Lin H, She Y, Cassileth B, Sirotnak F, Rundles SC. Maitake betaglucan MD-fraction enhances bone marrow colony formation and reduces doxorubicin toxicity in vitro, *International Immunopharmacology*, 4, 91-9, 2004.
- Maeda YY, Takahama S, Kohara Y, Yonekawa H. Two genes controlling acute phase responses by the antitumor polysaccharide, lentinan, *Immunogenetics*, 43, 215-219, 1996.
- Manson JM, Zenick H, Costlow RD 1982. Teratology test methods for laboratory animals. In: Hayves AW. ed. *Principles and methods of toxicology*. New York: Raven Press.
- Mauro MO, Monreal MTFD, Silva MTP, Pesarini JR, Mantovani MS, Ribeiro LR, Dichi JB, Carreira CM, Oliveira RJ. Evaluation of the antimutagenic and anticarcinogenic effects of inulin in vivo, *Genetics and Molecular Research*, 12, 2281-2293, 2013.
- Meira DA, Pereira PCM, Marcondes-Machado J, Mendes RP, Barraviera B, Pellegrino JRJ, Rezkallah-Iwasso MT, Peraçoli MTS, Castilho LM, Thomzaini I, Silva CL, Foss NT, Curri PR. The use of glucan as immunostimulant in the treatment of paracoccidioidomycosis, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 55, 496-503, 1996.
- Navarro SD, Mauro MO, Pesarini JR, Ogo FM, Oliveira RJ. Resistant starch: a functional food that prevents DNA damage and chemical carcinogenesis, *Genetics and Molecular Research*, 14, 1679-1691, 2015.
- Oliveira SP, Reyes FGR, Sgarbieri VC, Areas MA, Ramalho AC. Nutritional attributes of a sweet corn fibrous residue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 740-743, 1991.
- Oliveira RJ, Ribeiro LR, Silva AF, Matuo R, Mantovani MS. Evaluation of antimutagenic activity and mechanisms of action of beta-glucan from barley, in CHO-k1 and HTC cell lines using the micronucleus test, *Toxicology in Vitro*, 20, 1225-1233, 2006.
- Oliveira RJ, Matuo R, Silva AF, Matiazi HJ, Mantovani MS, Ribeiro LR. Protective effect of beta-glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae*, against DNA damage and cytotoxicity in wild-type (k1) and repair-deficient (xrs5) CHO cells, *Toxicology in Vitro*, 21, 41-52, 2007.
- Oliveira RJ, Kanno TYN, Salles MJS, Lourenç O, Santos AC, Ribeiro LR, Freiria GA, Matiazi HJ; Mantovani M.S, Silva AF. Effects of the polysaccharide -glucan on clastogenicity and teratogenicity caused by acute exposure to cyclophosphamide in mice, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 53, 164-173, 2009.
- Oliveira RJ, Salles MJS, Silva AF, Kanno TYN, Lourenço ACS, Leite VS, Matiazi HJ, Pesarini JR, Ribeiro LR, Mantovani MS . In vivo evaluation of the antimutagenic and antigenotoxic effects of

- β-glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* in acute treatment with multiple doses, *Genetics and Molecular Biology*, 36, 413-424, 2013.
- Oliveira RJ, Pesarini JR, Salles MJS, Kanno TYN, Lourenço ACS, Leite VS, Matiazi HJ, Pesarini JR, Ribeiro LR, Mantovani MS. In vivo evaluation of the antimutagenic and antigenotoxic effects of β-glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* in acute treatment with multiple doses, *Genetics and Molecular Biology*, 36, 413-424, 2013.
- Oliveira RJ, Pesarini JR, Salles MJS, Kanno TYN, Lourenço ACS, Leite VS, Silva, AF, Matiazi HJ Ribeiro LR, Mantovani MS. Effects of β-glucan polysaccharide revealed by the dominant lethal assay and micronucleus assays, and reproductive performance of male mice exposed to cyclophosphamide, *Genetics and Molecular Biology*, 37, 111-119, 2014a.
- Oliveira RJ, Pesarini JR, Mauro MO, Fronza LS, Victorelli SG, Cantero WB, Sena MC, Antonioli ACMB. Effects of phenylalanine on reproductive performance and teratogenesis in mice, *Genetics and Molecular Research*, 13, 5606-5616, 2014b.
- Oliveira RJ, Mantovani MS, Pesarini JR, Mauro MO, Da Silva AF, Souza TR, Ribeiro LR. 6-Dimethylaminopurine and cyclohexamide are mutagenic and alter reproductive performance and intrauterine development in vivo, *Genetics and Molecular Research*, 14, 834-849, 2015.
- Patchen ML, Mac Vittie TJ. Dose-dependent responses of murine pluripotent stem cells and myeloid and erythroid progenitor cells following administration of immunomodulating agent glucana, *Immunopharmacology*, 5, 303-313, 1983.
- Patchen ML, Mac Vittie TJ. Stimulated hematopoiesis and enhanced survival following glucan treatment in sublethally and lethally irradiated mice. *International Journal of Immunopharmacology*, 7, 923-932, 1985.
- Pesarini JR, Zaninetti PT, Mauro MO, Carreira CM, Dichi JB, Ribeiro LR, Mantovani MS, Oliveira RJ. Antimutagenic and anticarcinogenic effects of wheat bran in vivo, *Genetics and Molecular Research*, 12, 1646-1659, 2013.
- Rankin AJ, Sylvester I, Smith S, Yoshimura T, Leonard EJ. Macrophages cultured in vitro release leukotriene B4 and neutrophil attractant activation protein (interleukin 8) sequentially in response to stimulation with lipopolysaccharide and zymosan. *The Journal Clinical Investigation*, 86, 1556-1564, 1990.
- Raupp DS, Sgarbieri VC. Efeitos de frações fibrosas extraídas de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) na utilização de macro e micronutrientes da dieta pelo rato. *Ciência e Tecnologia*, 16, 100-107, 1996.
- Slamenová D, Lábjá J, Krizková L, Kogan G, Sandula J, Bresgen N, Eckl P. Protective effects of fungal (1→3)-β-D-glucan derivatives against oxidative DNA lesions in V79 hamster lung cells, *Cancer Letters*, 198, 153-160, 2003.
- Soltýs J, Benková M, Borosková Z. Immunorestorative effect of glucan immunomodulator on guinea pigs with experimental ascariasis. *Veterinary Immunology Immunopathology*, 42, 379-388, 1994.
- Takahashi H, Ohno N, Adachi Y, Yadomae T. Association of immunological disorders in lethal side effect of NSAIDs on β-glucan - administered mice. *Immunology and Medical Microbiology*, 31, 1-14, 2001.
- Tohamy AA, El-Ghor AA, El-Nahas SM, Noshay MM. β-Glucan inhibits the genotoxicity of cyclophosphamide, of NSAIDs on β-glucan - administered mice. *Immunology and Medical Microbiology*, 31, 1-14, 2001.
- Tohamy AA, El-Ghor AA, El-Nahas SM, Noshay MM. β-Glucan inhibits the genotoxicity of cyclophosphamide, adramycin and cisplatin, *Mutation Research*, 541, 45-53, 2003.
- Tokunaka K, Ohno N, Adachi Y, Tanaka S, Tamura H, Yadomae T. Immunopharmacological and immunotoxicological activities of a water-soluble (1→3)-β-D-glucan, CSBG from *Candida*, *International Journal of Immunopharmacology*, 22, 384-394, 2000.
- Toma RB, Curtis DJ. Dietary fiber: effect on in vivo bioavailability, *Food Techn*, 2, 111-116, 1986.
- Tsiapali E, Whaley S, Kalbfleisch J, Ensley HE, Browder IW, Willians LD. Glucans exhibit weak antioxidant activity, but stimulate macrophage free radical activity, *Free Radical Biology and Medicine*, 30, 393-402, 2001.
- Tungland BC, Meyer D. Nondigestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3, 90-109, 2002.
- Tzianabos AO, Cisneros RL. Prophylaxis with the immunomodulator PGG glucana enhances antibiotic efficacy in rats infected with antibiotic-resistant bacteria, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 797, 285-287, 1996.
- Uriu-Hare J, Stern JS, Reaven, GM, Keen CL. The effect of maternal diabetes on trace element status and fetal development in the rat, *Diabetes*, 35, 1031-1040, 1985.
- Walker ARP. Effect of high crude fiber intake on transit time and the absorption of nutrients in South African Negro schoolchildren, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 28, 1161-1169, 1975.
- Weisburger JH. Eat to live, not live to eat. *Nutrition*, 16, 767-773, 2000.

Editor Associado: Andreia Conceição Milan Brochado
Antonioli-Silva