

INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DE FRUTOSE SOBRE PARÂMETROS GESTACIONAIS, BIOQUÍMICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO DE RATAS WISTAR

Influence of fructose intake on gestational, biochemical and oxidative stress parameters in wistar rats

Luana Zin¹; Ana Tonello²; Silvane Souza Roman³; Luiz Carlos Cichota⁴; Alexandre Umpierrez Amaral⁵; Irany Achilles Denti⁶

¹ Acadêmica do Curso de Graduação em Enfermagem da URI – Erechim;

² Acadêmica do Curso de Graduação em Enfermagem da URI – Erechim;

³ Doutora em Ciência Biológicas pela UFSM-RS;

⁴ Doutor em Ciências Farmacêuticas pela UFSM-RS;

⁵ Doutor em Ciências Biológicas: Bioquímica pela UFRGS;

⁶ Doutor em Ciências da Saúde pela UNIESC-SC. *E-mail*: iranyd@uricer.edu.br

Data do recebimento: 23/09/2021 - Data do aceite: 12/01/2022

RESUMO: Este estudo teve como objetivo determinar aspectos da toxicidade materna e seus efeitos para a prole de ratas Wistar expostas à ingestão de frutose. Foram utilizadas 20 ratas Wistar prenhas distribuídas aleatoriamente em grupos controle e experimental. O grupo experimental foi subdividido em 4 grupos: tratados com dieta contendo frutose nas concentrações (65%, 40%, 30% e 20%), adicionada na ração diária. Observou-se diferenças estatisticamente significativas comparadas ao grupo controle, no número de fetos para os grupos 65% ($p < 0,05$) e para o grupo 30% ($p < 0,001$). Há diferenças nas taxas de ureia ($p < 0,05$) para o grupo 65%, colesterol total ($p < 0,01$) para o mesmo grupo. Triglicerídeos ($p < 0,05$) para o grupo 65% e ($p < 0,01$) para o grupo 40%. Glicemia ($p < 0,05$) para o grupo 65%. A análise das enzimas Aspartato Aminotransferase (AST) e alanina transferase (ALT) mostrou alteração estatisticamente significativa para AST para os grupos 65% ($p < 0,001$) e 40% ($p < 0,01$). Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) para o tecido hepático apontam significância estatística ($p < 0,05$) para o grupo 40%, sulfidrilas ($p < 0,01$) para o grupo 40% e ($p < 0,05$) para o grupo 20%. Catalase ($p < 0,05$) para o grupo 40%, Superóxido desmutase (SOD) ($p < 0,05$) para o

grupo 20%, Glutathione reduzida (GSH) ($p < 0,05$) para os grupos 40 e 20%. No tecido renal o estudo mostrou alterações estatisticamente significativas para SOD ($p < 0,01$) para o grupo 40% e ($p < 0,001$) para os demais grupos, GSH ($p < 0,01$) para o grupo 40%.

Palavras-chave: Frutose. Toxicidade. Gestação.

ABSTRACT: The aim of this study was to determine aspects of maternal toxicity and its effects on the offspring of Wistar rats exposed to fructose ingestion. Twenty pregnant Wistar rats were randomly distributed into control and experimental groups. The experimental group was subdivided into 4 groups: treated with a diet containing fructose at concentrations (65%, 40%, 30% and 20%) added to the daily food ration. There were statistically significant differences compared to the control group in the number of fetuses for the 65% groups ($p < 0.05$) and for the 30% group ($p < 0.001$). There are differences in urea rates ($p < 0.05$) for the 65% group, total cholesterol ($p < 0.01$) for the same group. Triglycerides ($p < 0.05$) for the 65% group and ($p < 0.01$) for the 40% group. Blood glucose ($p < 0.05$) for the 65% group. The analysis of the Aspartate Aminotransferase enzymes (AST) and Alanine Transferase (ALT) showed a statistically significant change for AST for the 65% ($p < 0.001$) and 40% ($p < 0.01$) groups. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) for liver tissue indicate statistical significance ($p < 0.05$) for the 40% group, sulfhydryls ($p < 0.01$) for the 40% group and ($p < 0.05$) for the 20% group. Catalase ($p < 0.05$) for the 40% group, Superoxide dismutase (SOD) ($p < 0.05$) for the 20% group, Reduced Glutathione (GSH) ($p < 0.05$) for the groups 40 and 20%. In renal tissue, the study showed statistically significant changes for SOD ($p < 0.01$) for the 40% group and ($p < 0.001$) for the other groups, GSH ($p < 0.01$) for the 40% group.

Keywords: Fructose. Toxicity. Pregnancy.

Introdução

A frutose é um importante carboidrato encontrado no organismo humano e na maioria das plantas, tendo sido isolada, pela primeira vez, em 1847 a partir da cana-de-açúcar (WANG et al., 1981). Descrita também como levulose, quimicamente é um açúcar simples, monossacarídeo (SCAGLIUSI; CARDOSO, 2019).

Tendo em vista a facilidade de acesso aos produtos industrializados, a ingestão

de frutose aumentou, expressivamente, nos últimos anos, em todo mundo. Considerada uma opção para substituir a glicose em diabéticos, a frutose é utilizada em adoçantes, pois apresenta uma estrutura química equivalente à da glicose, mas o metabolismo, independe da insulina, porém seus efeitos metabólicos são pouco divulgados (BARREIROS et al., 2005). Em termos calóricos, a frutose equivale à sacarose, mas tem poder adoçante duas vezes maior (SCAGLIUSI; CARDOSO, 2019).

A frutose pode ser obtida pela dieta ou sintetizada pela ação da enzima sacarase que

origina dois monossacarídeos (glicose e frutose), sendo absorvida pelo transportador de glicose (GLUT 5), não necessitando da ação da insulina para o seu metabolismo (SMITH et al., 2005; FERREIRA, 2010). Após a absorção pelas vilosidades do intestino delgado, este açúcar é hidrolisado, principalmente, no fígado, rins e adipócitos. Este processo metabólico requer a presença das enzimas frutoquinase, aldolase tipo B e tioquinase (FERREIRA, 2010).

No metabolismo hepático a frutose pode seguir caminhos com diferentes finalidades. A maior parte de frutose é convertida em glicose e pode ser convertida em glicogênio hepático, liberada para o plasma ou transformada em lactato (BIZEAU; PAGLIOSOTTI, 2005). Desta forma, aumenta, significativamente, os níveis de lactato, devido à atividade da frutoquinase, que supera a capacidade de ação da enzima fosfo-frutoquinase e desvia o metabolismo para a glicólise. Uma pequena parte é convertida em ácidos graxos, e, quando a ingestão é excessiva, pode levar ao desenvolvimento de esteatose hepática, alteração nas taxas de colesterol e triglicerídeos (FERREIRA, 2010). A frutose é um açúcar altamente lipogênico, que resulta na formação de gorduras, por isso, o uso em excesso pode produzir efeitos metabólicos no tecido hepático (DEKKER et al., 2010).

Como resultado do consumo excessivo de frutose o processo metabólico leva à formação de elevadas quantidades de acetil-CoA, que desencadeia aumento na síntese de ácidos graxos e na acumulação de gorduras no tecido adiposo (BONAFE et al., 2018). Na circulação sanguínea podem ser detectadas alterações nos ácidos graxos através de exames bioquímicos, como lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), conhecida como mau colesterol, triglicerídeos (TG), lactato e glicose (LÊ; TAPPY, 2010).

Evidências de estudos sobre o tema sugerem que o aumento do consumo de

frutose pode ser um fator importante no crescimento das taxas de síndrome metabólica (SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ et al., 2010). A síndrome metabólica é um problema de saúde pública, uma doença complexa e multifatorial, relacionada a dislipidemias, intolerância à glicose, resistência à insulina, hipertensão e obesidade. O consumo crônico de frutose resulta em alteração de glicemia, aumento nos níveis de ácido úrico e dislipidemias, pode ter relação com a patogenia de doenças cardiovasculares, induzir aumento da circunferência abdominal, aumento de peso e obesidade, constituindo a base para o desenvolvimento das doenças crônicas não transmissíveis (BARREIROS et al., 2005; DEKKER et al., 2010). Estas constituem uma das principais causas de morte no mundo e um dos fatores associados às doenças cardiovasculares crônicas (QIN et al., 2016) e a dieta é considerada fundamental no desenvolvimento das doenças crônicas não transmissíveis e preveníveis (MENESES et al., 2014).

A alimentação exerce influências marcantes na sobrevivência do ser humano, no desempenho de atividades pertinentes à vida, na saúde/doença, nas perspectivas da manutenção da espécie humana e a gestação pode ser considerada um período crítico, visto que a prole será responsável pela perpetuação da espécie (PINHEIRO; GENTIL, 2005).

A partir da frutose, em estudos com animais e em seres humanos, foi demonstrada a ocorrência do aumento nos triglicerídeos, bem como o aumento das enzimas lipogênicas (MOURA et al., 2008). A ingestão crônica de frutose pode acarretar distúrbios em vários tecidos, como o fígado, o tecido adiposo, o sistema gastrointestinal e o sistema nervoso central. Estes têm potencial para determinar aspectos da síndrome metabólica, incluindo dislipidemia, resistência à insulina e aumentar o tecido adiposo (MAGENIS, 2018).

Frutosemia pode levar a um baixo grau de inflamação, como característica metabólica observada na obesidade (DESPRES; LEMIEUS, 2006). O Fator de Necrose Tumoral ($TNF\alpha$) mostra-se aumentado na obesidade e tem sido evidenciado seu papel na resistência à insulina (DYCK et al., 2006). Estudo conduzido por Hotamisligil et al. (1993) mostrou que o aumento de $TNF\alpha$, derivado de tecido adiposo na obesidade, contribuíram para a resistência à insulina e as concentrações plasmáticas aumentadas de $TNF\alpha$ foram observadas na alimentação rica em frutose em ratos (TALAAT; EL-SHEIKH, 2009). Outro estudo conduzido por Stern (1996) mostrou que o $TNF\alpha$ aumentou em tecidos hepáticos em ratos alimentados com frutose.

O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre os sistemas oxidantes e antioxidantes, onde os oxidantes obtêm supremacia causando danos a tecidos ou organelas celulares (SCHAFER, et al., 2001). A síntese de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) são partes integrantes do metabolismo bem como necessária para funções como a fagocitose. Espécies reativas de oxigênio (ERO) ou de nitrogênio (ERN) ocorrem em processos fisiológicos ou patológicos (CARVALHO, 2018). Fisiologicamente essas espécies reativas apresentam diversas funções, como a liberação de espécies tóxicas oxidantes pelos neutrófilos, que podem atuar na defesa do hospedeiro contra uma infecção (ALMEIDA, 2013). Estes processos participam, ainda, na sinalização celular e, também, estão envolvidos na síntese e regulação de algumas proteínas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Por outro lado, segundo as mesmas referências, quando formadas em excesso, essas espécies altamente reativas têm o potencial de oxidar moléculas biológicas incluindo proteínas, lipídios e DNA. Com relação aos efeitos prejudiciais das reações oxidantes ao organismo, os radicais livres podem promover lipoperoxidação, principalmente de ácidos graxos poli-insaturados

de membranas plasmáticas celulares; causar a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL); reagir com proteínas, levando à sua inativação e consequente alteração de sua função; e também reagir com o DNA e RNA, levando a mutações e distúrbios de transcrição, entre outros efeitos (CARVALHO, 2016).

Antioxidantes são substâncias que reduzem a formação de radicais livres ou reagem com os mesmos, neutralizando-os (CAMPOS; TAPPY, 2016). Assim, em condições de elevada produção de espécies reativas, a célula pode se proteger contra um possível dano oxidativo através de antioxidantes enzimáticos e/ou não enzimáticos (CARVALHO, 2016). Embora diferentes na composição, as defesas antioxidantes estão amplamente distribuídas no organismo e compreendem agentes que removem cataliticamente os radicais livres, como as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), entre outras; proteínas que minimizam a disponibilidade de pró-oxidantes (íons de ferro e cobre, por exemplo), ao se ligarem aos mesmos, como as transferrinas; proteínas que protegem biomoléculas de danos (incluindo dano oxidativo) por outros mecanismos; agentes de baixo peso molecular que sequestram ERO e ERN, como glutathione reduzida (GSH), α -tocoferol, ácido ascórbico e a bilirrubina (SINGH et al., 2004; HALLIWELL, 2012).

Em condições patológicas, a produção de espécies reativas aumenta e as defesas antioxidantes podem ser insuficientes para restabelecer a homeostase redox (CARVALHO, 2016). O rompimento entre o equilíbrio pró-oxidante e antioxidante é descrito como estresse oxidativo, e pode representar um mecanismo fundamental de doenças humanas (HALLIWELL, 2012). Assim, o termo “estresse oxidativo” é usado para se referir à situação na qual a geração de espécies reativas ultrapassa a capacidade das defesas antioxidantes disponíveis (CARVALHO,

2016). Isso pode resultar tanto da redução das defesas antioxidantes quanto da produção aumentada de oxidantes, bem como da liberação de metais de transição ou a combinação de quaisquer desses fatores (HALLIWELL, 2012).

O sistema de proteção contra os oxidantes são os antioxidantes, classificados em enzimático e não enzimático (BARBORA et al., 2010). O sistema enzimático é representado principalmente pelas enzimas Superóxido dismutase, Catalase, Glutaciona Peroxidase e Glutaciona Redutase (GR) (NETTO et al., 2004). A enzima Superóxido dismutase (SOD) está localizada no citosol, lisossomas, núcleo e espaço intermembranas das mitocôndrias e realiza a função de desmutação dos íons superóxido em peróxido de hidrogênio (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

A Catalase (CAT) age no grupo hemoproteínas constituídas por íons ferro (heme) e, usualmente, são descritas como componentes da hemoglobina, mioglobina, citocromo e óxido nítrico endotelial (NELSON; LEHNINGER; COX, 2000). Está localizada no peroxissoma, principal organela responsável pela desintoxicação celular e pela oxidação de ácidos graxos de cadeia longa, produtores de peróxidos orgânicos; esta enzima tem a função da redução das concentrações do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e a consequente liberação do oxigênio (HALLIWELL, 2012).

A função da Glutaciona Peroxidase (GPx) está localizada no citosol e mitocôndrias e sua função consiste em reduzir o (H_2O_2) e outros peróxidos em água ou álcool, atuando sobre peróxidos de resíduos de ácidos graxos nas membranas e lipoproteínas, reduzindo também o hidroperóxido da timina, formado como consequência do ataque dos radicais à base timina (BURK, 2002). A Glutaciona redutase (GR) dependente de NADPH e da integridade da via das pentoses. É a enzima necessária para manter a glutaciona em sua forma reduzida e, possivelmente, para con-

trolar o estado redox de NADP em tecidos onde Glutaciona na forma oxidada (GSSG) está disponível. A recuperação de Glutaciona reduzida (GSH) pela GR é uma etapa essencial para manter íntegro o sistema de proteção celular, pois baixas concentrações de GSH estão associadas ao estresse oxidativo (SCHAFER; BUETTNER, 2001). Por outro lado, altas concentrações poderiam indicar a reação adequada e adaptativa de tecidos a agentes oxidantes.

Na inativação de um agente oxidante ocorre produção de Glutaciona Oxidada (GSSG) e depleção de Glutaciona reduzida (GSH). Em situações em que o sistema óxido-redução está íntegro, haverá recuperação da GSH. Entretanto, sob condições de excesso de agentes oxidantes e/ou deficiência do sistema protetor, haverá desequilíbrio entre o consumo de GSH e a produção de Glutaciona oxidada (GSSG), o que caracteriza o estresse oxidativo (HALLIWELL, 2012).

O estudo teve como objetivo geral determinar aspectos da toxicidade materna de ratas Wistar expostas à ingestão de frutose. Os objetivos específicos foram: verificar a toxicidade materna por meio de sinais clínicos, peso corporal das matrizes, peso e número de fetos da prole após a introdução de dieta à base de frutose; descrever as alterações da prole através do número e peso dos fetos; comparar os achados dos índices maternos, fetais e bioquímicos entre os grupos; efetuar análises bioquímicas para determinar as taxas de glicemia, ureia, creatinina, triglicérides, AST, ALT; colesterol total em todas as ratas do experimento e determinar os parâmetros da homeostase redox.

Material e Métodos

Trata-se de um experimento onde foram utilizadas 20 ratas (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar prenhas, provenientes do

Biotério da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI), distribuídas nos grupos controle e tratado. O acondicionamento foi efetuado em gaiolas-padrão, contendo dois animais por gaiola, mantidos em ciclos claro-escuro de 12 horas, à temperatura de $23\pm 1^\circ\text{C}$, com exaustão, alimento e água em livre acesso.

Matrizes virgens foram acasaladas com machos da mesma espécie e as prenhes foram detectadas pela coleta de material do canal vaginal através de esfregaço, disposto em lâminas e visualizado em microscópio óptico. A visualização de espermatozoides foi considerado o 1º dia da gestação. A partir desta data os animais foram separados em grupos tratados com ração contendo frutose nas concentrações (65, 40, 30 e 20%) e as do grupo controle recebeu ração normal, até o 19º dia da gestação. Após este período, a eutanásia foi efetuada com administração de Zoletil 50mg/kg (IP). Após e ausência de reflexos foi coletado o sangue para os testes bioquímicos e na sequência efetuada na perfusão com solução fisiológica. Subsequentemente a remoção da quase totalidade do sangue efetuamos a colheita do fígado e rins para determinar o estresse oxidativo, número e peso dos fetos. O sangue foi centrifugado e o plasma foi acondicionado em ependorfs. Fígado e rins também foram acondicionados em ependorfs e na sequência estes produtos biológicos foram acondicionados em freezer -80°C até o momento da elaboração dos testes.

A análise bioquímica foi efetuada com Kits comerciais Labtest®. Para definir o estresse oxidativo foram utilizados protocolos-padrão. A determinação dos Níveis de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBA-RS) em homogenatos de fígado e rim foi realizada de acordo com o método de (ESTERBAUER; CHEESEMAN, 1990). Para a determinação de Sulfidrilas Totais foi utilizado o método descrito por (AKSENOV; MARKESBERY, 2001). A catalase (CAT) foi

determinada através do método de (AEBI, 1984). A atividade da SOD foi medida em homogenatos de fígado e rim usando o ensaio desenvolvido por (BANNISTERS; CALABRESE, 1987). Atividade de SOD2 foi medida na presença de cianeto de sódio 5 mM para inibir Atividade de SOD1. Todas as medições das amostras foram normalizadas para o teor de proteína e avaliado pelo método de Bradford (1976) ou pelo método BCA (glutaciona total). A atividade da glutaciona peroxidase foi medida por meio do monitoramento da oxidação de NADPH a 340 nm na presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (FLOHÉ, 1984).

A Frutose PA® foi adquirida da empresa Labsynth Produtos para Laboratório e o produto foi disponibilizado aos animais sob a forma de biscoitos. A utilização dos animais seguiu a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos, aprovada por meio da Portaria do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) nº 465, de 23 de junho de 2013 (BRASIL, 2013). O Gerenciamento técnico de resíduos de serviços de saúde seguiu a Resolução 306, de dezembro de 2004 (Brasil, 2004).

O projeto foi aprovado pela CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais - URI Erechim) e todos os esforços foram feitos para minimizar o número de animais utilizados e seu sofrimento. Os resultados foram analisados utilizando o teste de análise de variância de 1 via (One ANOVA), seguido do teste *post hoc de Tukey* de múltiplas comparações. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Resultados

A média de peso corporal inicial das matrizes do grupo controle foi de $228,75\pm 8,18\text{g}$ e o peso final de $258,75\pm 48,64\text{g}$; do grupo

tratado com frutose a 65% foi $224,5 \pm 11,62g$ e no final $257,5 \pm 23,78g$; o grupo que recebeu ração com 40% de frutose a média do peso inicial foi de $222,17 \pm 25,52g$ e o final de $275,5 \pm 12,12g$. Já o grupo tratado com 30% apresentou uma média de peso inicial $218,33 \pm 21,88g$ e $250,25 \pm 30,96g$ no peso final. A média do peso inicial do grupo tratado com 20% de frutose foi $205 \pm 38,22g$ e o final foi $240,75 \pm 27,54g$, não havendo diferença estatisticamente significativa comparada ao grupo controle (Figura IA).

Em relação ao número de fetos (Figura IB), a média do grupo controle foi $9 \pm 0,82$. Das matrizes do grupo tratado com 65% de frutose, somente duas mantiveram a gestação e a média do número fetos foi $4,8 \pm 0,71$, havendo diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) comparada ao grupo controle. Para o grupo 40% a média do número de fetos foi $9,25 \pm 1,71$. Para as matrizes do grupo tratado com frutose a 30% somente duas mantiveram a gestação e a média de fetos foi $3,5 \pm 1,54$, existindo diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$) quando comparado ao grupo

controle. O grupo tratado com 20% de frutose teve em média $7,5 \pm 1,73$. Também apresentaram diferenças com significância estatística os grupos 65vs 40% ($p < 0,05$) e 40vs30% ($p < 0,01$). Estes resultados sugerem que o excesso de consumo de frutose no período gestacional pode prejudicar a fertilidade. Gestações bem-sucedidas também podem ser avaliadas pelo peso dos fetos ou dos recém-nascidos. Este indicador também é utilizado em gestações humanas, como parte do conjunto de sinais probabilísticos de saúde.

O peso médio dos fetos no grupo controle foi $1,89 \pm 0,15g$, grupo 65% $1,03 \pm 0,32g$; grupo 40% $1,38 \pm 0,13g$; grupo de 30% $1,33 \pm 0,06g$; grupo 20% $1,44 \pm 0,23$. No estudo atual o déficit de peso foi consideravelmente marcante entre os grupos quando comparados ao controle: ($p < 0,001$) para o grupo 65%; ($p < 0,01$) para os grupos 40 e 30%; ($p < 0,05$) para o grupo 20%, Figura IC. Os dados também mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos 65vs40% ($p < 0,05$) e entre o grupo 65vs20% ($p < 0,01$).

Figura I - Dados maternos e fetais

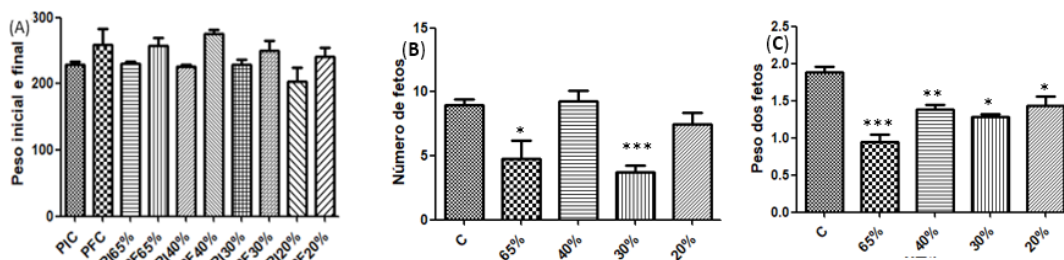


Figura (IA) - mostra a variação do peso corporal inicial e final das matrizes, observado no início e ao término da gestação. PIC= Peso inicial do grupo controle; PFC= Peso final do grupo controle; PI65%= Peso inicial e PF65% peso final do grupo tratado com frutose a 65%; PI40% Peso inicial e PF40% peso final do grupo tratado com 40% de frutose adicionada à ração; PI30%= Peso inicial e PF 30%= Peso final do grupo tratado com frutose a 30%; PI20% peso inicial e PF20% peso final do grupo tratado com frutose a 20%. **(Fig.IB)** - C= número de fetos do grupo controle; 65%= número de fetos do grupo tratado com de frutose 65%; 40%= número de fetos do grupo tratado com frutose a 40%; 30%= número de fetos do grupo tratado com frutose a 30%; 20%= número de fetos do grupo tratado com frutose a 20%. **(Fig.IC)** C= Peso de fetos do grupo controle; 65%= Peso de fetos do grupo tratado com de frutose 65%; 40%= Peso de fetos do grupo tratado com frutose a 40%; 30%= Peso de fetos do grupo tratado com frutose a 30%; 20%= Peso de fetos do grupo tratado com frutose a 20%. Parâmetros obtidos de quatro animais por grupo, tratadas durante dezenove dias. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; obtida por ANOVA de uma via com teste *t* para comparações múltiplas. Os dados representam média \pm erro padrão e a significância estatística foi definida $p < 0,05$ obtida por ANOVA de uma via com teste *t* para comparações múltiplas.

Estes dados indicam que a ingestão de frutose nas concentrações propostas pelo protocolo interferiram no desenvolvimento fetal e possível toxicidade para a gestação. O conjunto de achados, correlacionados à gestação humana, ganham relevância, visto que o baixo peso ao nascer, estatisticamente, está associado ao aumento da morbimortalidade e retardo no crescimento e desenvolvimento. A redução do número de fetos evidencia déficit na fecundidade e nesta situação podem estar relacionados a distúrbios metabólicos.

Parâmetros bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos foram efetuados através das taxas de creatinina, ureia,

colesterol total, triglicerídeos, enzima Aspartato Aminotransferase (AST), alanina transferase (ALT) e glicemia. Conforme os resultados expostos na Figura (IID), as taxas de creatinina para o grupo controle média de $0,55 \pm 0,10$ mg/dl; grupo 65% $0,66 \pm 0,05$ mg/dl; grupo 40% $0,52 \pm 0,08$ mg/dl; grupo 30% $0,69 \pm 0,09$ mg/dl; grupo 20% $0,56 \pm 0,08$ mg/dl. Não se observou significância estatística entre os grupos. No entanto, as taxas de creatinina dos grupos tratados com frutose 65% e 30% foram sensivelmente mais elevadas quando comparado ao grupo controle.

As taxas de ureia, mostradas na Figura (IIE), para o grupo controle a média foi $34,5 \pm 4,97$ mg/dl; grupo 65% $45 \pm 8,75$ mg/dl; grupo 40% $28,25 \pm 4,15$ mg/dl; grupo 30% $34,5 \pm 3,20$ mg/dl; grupo 20% $31 \pm 6,60$ mg/dl

Figura II – Taxas de creatinina; ureia, colesterol total e triglicerídeos.

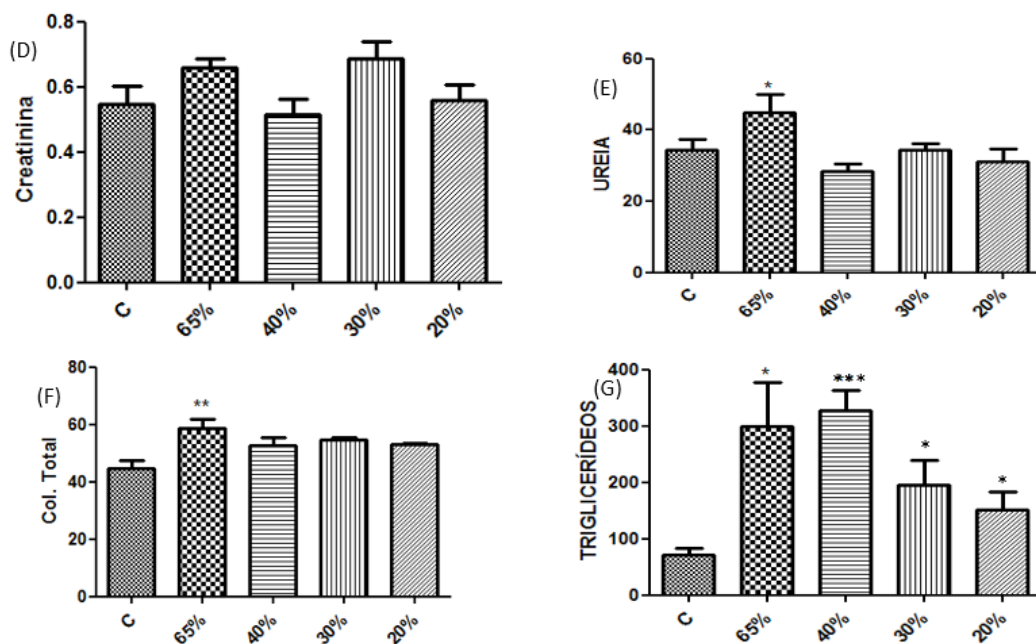


Figura II – (Fig. IIA) Taxas de creatinina. C= Grupo controle; 65%= Grupo tratado frutose a 65%; 40%= Grupo tratado com 40% de frutose; 30% Grupo tratado com frutose 30%; 20%= Grupo tratado com 20% de frutose. Fig. IIE – taxas de ureia; Fig. IIF – Taxas de colesterol total; Fig. IIG – taxas de triglicerídeos. Parâmetros obtidos de quatro ratas Wistar por grupo, com dieta normal para o grupo controle e os demais com dieta a 65%; 40%; 30% e 20% de frutose adicionada à ração durante dezenove dias. Dados de quatro animais por grupo. Os dados representam média ± erro padrão e a significância estatística foi definida $p < 0,05$; obtida por ANOVA de uma via com teste t para comparações múltiplas. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; obtida por ANOVA de uma via com teste t para comparações múltiplas.

dl. Os dados mostram que o grupo 65% apresentou significância estatística ($p < 0,05$) comparando com o grupo controle.

As média das taxas de colesterol total (Figura IIF) para o grupo controle foi de $44,75 \pm 4,76$ mg/dl; grupo 65% $58,75 \pm 5,12$ mg/dl, havendo significância estatística ($p < 0,01$) comparando com o grupo controle. No grupo 40% a média foi de $52,5 \pm 5,02$ mg/dl; grupo 30% $54,5 \pm 1,80$ mg/dl; grupo 20% 53 ± 1 mg/dl. Podemos observar que as taxas de colesterol total foram mais elevadas em todos os grupos tratados com frutose, comparando com os resultados do grupo controle.

Quanto às taxas de triglicerídeos (Figura IIG) no grupo controle foi $71,25 \pm 22,08$ mg/dl; grupo 65% $299,5 \pm 134,57$ mg/dl, apresentando significância estatística definida ($p < 0,05$). Para o grupo 40% a média foi de $326,50 \pm 63,05$ mg/dl, apresentando significância estatística ($p < 0,01$), comparada ao grupo controle. Para o grupo 30% a média foi $195 \pm 76,30$ mg/dl e grupo 20% $151,25 \pm 54,42$ mg/dl. Podemos observar que as taxas de triglicerídeos foi mais acentuada para os grupos em que a adição de frutose foi maior, comparando com o grupo controle. Estes resultados indicam que a adição

acúcar na dieta tem potencial para elevar as taxas de triglicerídeos, já que todos os grupos obtiveram taxas médias acima das verificadas no grupo controle.

As taxas médias da enzima Aspartato Aminotransferase (AST) representado pela Figura (IIIH), para o grupo controle foi de $67,5 \pm 8,38$ mg/dl; no grupo 65% $122,75 \pm 13,81$ mg/dl; grupo 40% $104,25 \pm 15,35$ mg/dl; no grupo 30% $89,5 \pm 5,89$ mg/dl; no grupo 20% $86 \pm 9,43$ mg/dl. Pode-se observar que o grupo 65% de frutose apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$) e o grupo 40% ($p < 0,01$), comparando ao grupo controle. Adicionalmente, os resultados apontam que todos os grupos apresentaram elevações nas taxas desta enzima. Os dados também apontaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos 65vs30% e 65vs20% ($p < 0,01$).

Em relação a enzima ALT as médias foram $34,75 \pm 3,70$ mg/dl para o grupo controle; $44,75 \pm 11,63$ mg/dl para o grupo 65%; grupo 40% $46,75 \pm 7,53$ mg/dl; grupo 30% $39,75 \pm 6,76$ mg/dl; grupo 20% $45,25 \pm 6,83$ mg/dl, conforme Figura (III-i). Os resultados não apresentaram diferença estatisticamente

Figura III - Taxas de AST, ALT e glicemia

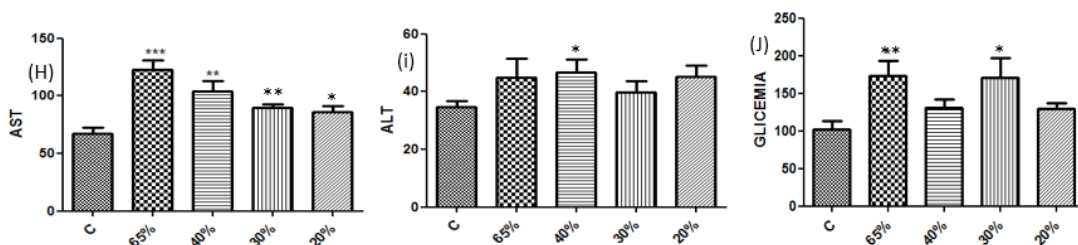


Figura (IIIH) Taxas da enzima Aspartato Aminotransferase (AST). C=grupo controle; 65%, 40%, 30% e 20% de frutose adicionada a ração. Figura (III-i) - Taxas da enzima Aspartato Aminotransferase (ALT). C= controle; na sequência 65%, 40%, 30%, 20%. Fig. (IIIJ) - C= controle; na sequência 65%, 40%, 30%, 20%. Parâmetros obtidos de ratos Wistar, em grupos de quatro animais com dieta normal para o grupo controle e os demais com dieta com frutose a 65%; 40%; 30% e 20% de frutose adicionado à ração durante dezoito dias. Os dados representam média ± erro padrão e a significância estatística foi definida * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; obtida por ANOVA de uma via com teste t para comparações múltiplas.

significativa, muito embora todos os grupos tenham apresentado taxas mais elevadas quando comparadas ao grupo controle.

A média de glicemia, no grupo controle foi de $102,5 \pm 18,77$ mg/dl; no grupo tratado com 65% de frutose $173,5 \pm 33,42$ mg/dl; no grupo tratado com 40% a média foi de $130,5 \pm 20,80$ mg/dl; no grupo tratado com 30% foi $170,25 \pm 47,07$ mg/dl; no grupo tratado com 20% foi de $130 \pm 13,04$ mg/dl. Comparando as taxas de glicemia entre os grupos, identificou-se diferença estatisticamente significativa $*p < 0,05$ para grupo tratado com 65%, 30 e 20% em relação ao grupo controle; ($p < 0,001$) para o Cvs40% (Figura IIIJ). Por outro lado, todos os grupos tratados com frutose apresentaram taxas de glicemia superior ao grupo controle.

Determinação do estresse oxidativo

a) Tecido hepático

Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) são formadas como um subproduto da peroxidação lipídica (TSAI et al., 2014). Desta forma, os resultados abaixo expressam os achados do estudo atual relacionado à possibilidade de dano a lipídios após o consumo de frutose. Os dados serão apresentados na forma de média e desvio padrão e, subsequentemente, se houver diferença estatisticamente significativa.

A média e o desvio padrão para o grupo controle foi $0,34 \pm 0,19$; 65% $0,42 \pm 0,15$; 40% $0,57 \pm 0,09$; 30% $0,45 \pm 0,01$; $0,33 \pm 0,05$ para o grupo 20%. Os níveis TBA-RS, Figura IV

Figura IV – Marcadores de estresse oxidativo do tecido hepático

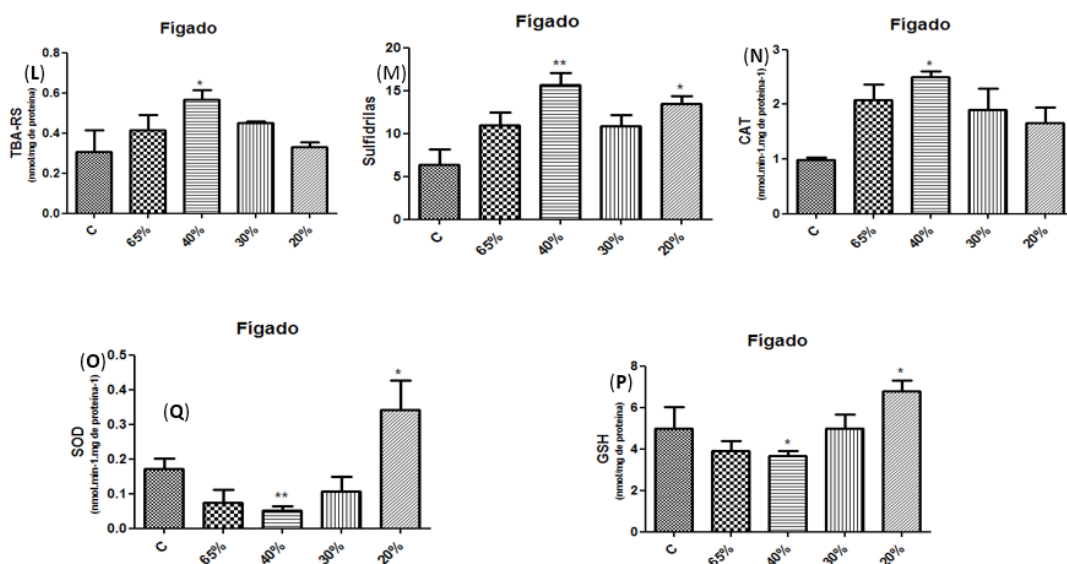


Figura III – (L) TBA-RS. C=grupo controle; 65%, 40%, 30% e 20% de frutose adicionada a ração, respectivamente para todas as imagens. Figura III (M) - sulfidrilas. C= controle; 65%, 40%, 30%, 20%. Fig. III (N) – Catalase; Fig. III (O) SOD; Fig. III (P) GSH. Parâmetros obtidos de ratos Wistar, em grupos de quatro animais com dieta normal para o grupo controle e os demais com dieta com frutose a 65%; 40%; 30% e 20% de frutose adicionado à ração durante dezenove dias. A absorvância foi medida em espectrofotômetro a 532 nm. Os resultados foram expressos em nmol TBARS/mg de proteína. A absorvância para sulfidrilas foi 512nm. $*p < 0,05$, $**p < 0,01$; obtida por ANOVA de uma via com teste *t* para comparações múltiplas. Os dados representam média ± erro padrão e a significância estatística foi definida $p < 0,05$; obtida por ANOVA de uma via com teste *t* para comparações múltiplas.

(L), mostraram resultados estatisticamente significativos para o grupo 40% ($p < 0,05$). No entanto, os grupos 65 e 30% também mostraram resultados sensivelmente aumentados, quando comparados ao grupo controle.

A média e o desvio padrão do conteúdo de sulfidrilas, Figura IV (M), para o grupo controle, foi $5,74 \pm 2,34$; grupo 65% $8,31 \pm 1,66$; grupo 40% $8,33 \pm 2,21$; grupo 30% $8,05 \pm 1,31$; $8,25 \pm 1,68$ para o grupo 20%. Os resultados mostraram aumento estatisticamente significativo (** $p < 0,01$) para o grupo 30% e (* $p < 0,05$) para o grupo 20%. Contudo, os grupos 65% e 20% também mostraram aumentos sensíveis, sem significância estatística.

A média e o desvio padrão da enzima catalase, Figura IV (N) no estudo atual, para o grupo controle foi $1,8 \pm 0,38$; grupo 65%; $2,07 \pm 0,60$; grupo 40% $2,5 \pm 0,15$; grupo 30% $1,90 \pm 0,79$; $1,66 \pm 0,56$ para o grupo 20%. Os níveis da enzima catalase mostraram resultados estatisticamente significativos para o grupo 40% (* $p < 0,05$) em relação ao controle. No entanto, todos os grupos mostraram aumento na expressão desta enzima, possivelmente indicando resposta adaptativa a processo lesivo.

A média e o desvio padrão para o grupo controle foi $0,13 \pm 0,04$; grupo 65% $0,09 \pm 0,06$; grupo 40% $0,05 \pm 0,02$; grupo 30% $0,13 \pm 0,07$, grupo 20% $0,20 \pm 0,10$. Quanto à SOD no estudo atual, houve significância estatística para os grupos 40% (** $p < 0,01$) e 20% (* $p < 0,05$), comparado ao grupo controle, Figura IV (O). A análise destes resultados pode expressar agressiva ação oxidante no grupo 40% e mais branda no grupo 20%. Contudo, todos os grupos apresentaram diferenças quando comparados ao controle

No estudo atual os níveis da GSH Figura III (P) mostraram resultados estatisticamente significativos para os grupos 40% ($p < 0,05$) (pela sua redução) e 20% ($p < 0,05$) (pelo au-

mento) em relação ao controle. A média foi $4,97 \pm 1,83$ para o grupo controle; $3,91 \pm 0,92$ para o grupo 65%; $3,67 \pm 0,50$ para o grupo 40%; $4,97 \pm 1,43$ para o grupo 30%; $6,78 \pm 1,05$ para o grupo 20% respectivamente. Também verificaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os grupos 65vs20% e 40vs20% ($p < 0,05$). A interpretação destes resultados pode expressar a adaptação dos tecidos ou células ao estresse oxidativo. Quando o estresse oxidativo for moderado, comumente ocorre aumento na síntese dos sistemas de defesa antioxidante para restaurar a homeostasia oxidante/antioxidante. No entanto, quando os fatores pró oxidantes forem superiores aos antioxidantes pode-se observar redução na expressão dos agentes antioxidantes ou aumento dos oxidantes.

b) tecido renal

Os níveis TBA-RS, no tecido renal, não mostraram resultados estatisticamente significativos entre os grupos, muito embora todos os grupos tenham apresentado concentrações aumentadas em relação ao controle. A média e o desvio padrão para o grupo controle foi $0,79 \pm 0,09$; grupo 65% $0,66 \pm 0,07$; grupo 40% $0,78 \pm 0,14$; grupo 30% $0,84 \pm 0,05$; grupo 20% $0,88 \pm 0,23$, Figura V (Q).

Quanto a sulfidrilas, a média e o desvio padrão foram $23,20 \pm 3,50$ para o grupo controle; grupo 65% $19,07 \pm 2,27$; grupo 40% $18,96 \pm 4,88$; grupo 30% $18,60 \pm 3,55$; $18,84 \pm 2,79$ para o grupo 20%, Figura V (R). TBA-RS e sulfidrilas não mostraram significância estatística comparado ao controle.

Para a CAT, no tecido renal, a média e o desvio padrão para o grupo controle foi $2,24 \pm 0,67$; grupo 65% $1,64 \pm 0,54$; grupo 40% $1,72 \pm 0,77$; grupo 30%; $1,52 \pm 0,20$; $2,43 \pm 0,54$ para o grupo 20% (Figura V-S). Muito embora nos grupos 65, 40 e 30% tenham mostrado sensível redução na sua expressão, não mostrou significância estatística na comparação com o grupo controle ou entre os grupos.

Por outro lado, os resultados da atividade da enzima SOD apresentou redução estatisticamente significativa nos quatro grupos que receberam frutose em diferentes concentrações ($p < 0,01$) para o grupo 65% e ($p < 0,001$) para os grupos 40, 30 e 20%, comparadas ao grupo controle. A média e desvio padrão para o grupo controle foi $0,64 \pm 0,21$; grupo 65% $0,19 \pm 0,02$; grupo 40% $0,20 \pm 0,06$; grupo 30% $0,07 \pm 0,02$; $0,04 \pm 0,01$ para o grupo 20%, Figura V (T).

A Figura V(U) expõe a medida das concentrações de glutathiona reduzida (GSH) no tecido renal, considerada o principal antioxidante não enzimático. A média e o desvio padrão para o grupo controle foi $5,35 \pm 0,50$; grupo 65% $3,21 \pm 1,79$; grupo 40% $4,82 \pm 1,56$; grupo 30% $3,87 \pm 1,53$; $3,90 \pm 0,71$ para o

grupo 20%. Os níveis de GSH não mostrou significância estatística entre o grupo controle e os demais grupos.

Discussão

Parâmetros bioquímicos, do estudo atual, mostraram alterações estatisticamente significativas nas taxas de ureia, colesterol total, glicemia e principalmente nas taxas de triglicerídeos. As taxas de ureia foram marcadamente mais acentuadas no grupo que recebeu a maior concentração de frutose. Quanto às taxas do colesterol total, todos os grupos, independentemente da concentração de frutose adicionado à dieta, obtiveram taxas mais elevadas quando comparadas ao grupo

Figura V - Marcadores de estresse oxidativo do tecido renal

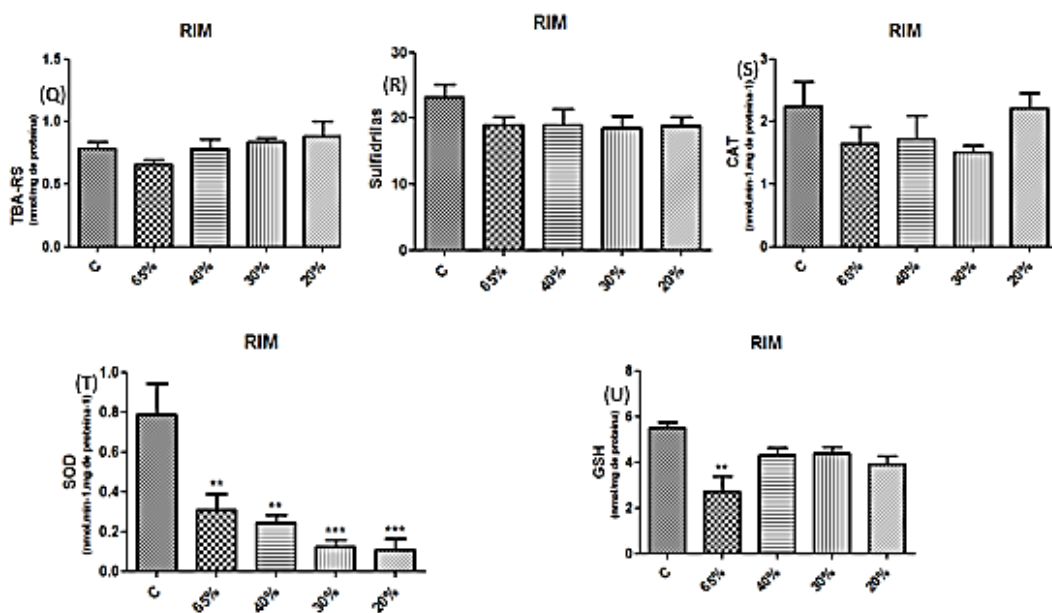


Figura IV (Q) - TBA-RS; Fig. IV (R) Sulfidrilas; Fig. IV (S) catalase; Fig. IV (T) SOD; Fig. IV (U) GSH. Parâmetros obtidos de ratos Wistar, em grupos de quatro animais com dieta normal para o grupo controle e os demais com dieta com frutose a 65%; 40%; 30% e 20% de frutose adicionado à ração durante dezenove dias. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 532 nm. Os resultados foram expressos como nmol TBARS/mg de proteína. A absorbância para sulfidrilas foi 512nm. Os dados representam média \pm erro padrão e estão expressos em nmol, $\text{min}^{-1} \cdot \text{mg}$ proteína $^{-1}$. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; obtida por ANOVA de uma via com teste t para comparações múltiplas. * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle (Teste t de Student para amostras independentes).

controle. Contudo, os grupos 65% e 40% apresentaram taxas estatisticamente significativas. As taxas de triglicerídeos mostraram os mesmos resultados estatísticos, porém para todos os grupos, quando comparadas ao grupo controle. A glicemia mostrou taxas alteradas para todos os grupos com significância estatística para os grupos 65 e 30%.

Esses achados são similares aos resultados publicados por Stanhope et al. (2009). Mostraram que a frutose pós-prandial reduziu na depuração dos triglicerídeos com a indução de hipertrigliceridemia. Segundo Shachter (2001), a apolipoproteína (APOCIII) é um inibidor da lipase hepática e desempenha papel fundamental na hidrólise e remoção de triglicerídios (TG), assim como VLDL, já que os TG são transportados pela corrente sanguínea acoplados ao VLDL. Estudos in vivo, com dieta rica em frutose, em hamsters, demonstrou que esta aumentou a secreção de apolipoproteína no fígado, prejudicando a hidrólise dos (TG), e mostrando uma possível deficiência hepática para o metabolismo de produtos ricos em frutose provenientes da alimentação (SU et al., 2009). Contudo, o verdadeiro impacto da dislipidemia na gestação, por constituir-se em período breve, possivelmente não possa ser equivalente ao impacto desse distúrbio no desenvolvimento de doenças devidas ao aparelho cardiovascular.

O baixo peso e a redução no número de fetos, no estudo atual, pode ser explicado, pelo menos em parte, pela transferência da frutose da mãe para o feto, conduzida pela proteína GLUT 5, presentes na placenta (FERREIRA, 2010). Taxas aumentadas de frutose em recém-nascidos, superiores a taxas maternas, foram encontradas por Barreiros et al. (2005), indicando que este carboidrato pode ser transferido via placentária ou sintetizado pela mesma.

O efeito de altas concentrações de frutose disponibilizada na dieta de matrizes,

mostrou redução na fertilidade e no número de fetos (SABEN et al., 2016). Os mesmos autores descrevem que altas concentrações de frutose afetam a gestação pela alteração no endométrio, determinado pela redução na síntese de hormônios esteroides e por fatores que promovem o desequilíbrio da homeostase redox, possivelmente dificultando a nidacção.

Quanto ao estresse oxidativo, no tecido hepático, o estudo atual mostrou alterações estatisticamente significativas para TBARS, sulfidrilas, CAT, SOD e GSH indicando peroxidação lipídica, dano a proteínas e aumento ou redução das enzimas encarregadas das defesas contra agentes oxidantes.

No tecido renal, o estudo mostrou alterações estatisticamente significativas para a SOD e GSH, indicando ação menos agressiva daquela contatada no tecido hepático.

Ojeda et al. (2018), conduziam experimento com ratos expostos à ingestão de frutose durante a gestação e lactação. Encontraram alterações na expressão proteica hepática, alterações do balanço oxidativo e perfil metabólico da prole de ratos. Adicionalmente, descrevem a ocorrência de síndrome metabólica induzida, afetando as matrizes prenhas e posteriormente os lactantes, determinando desequilíbrio no perfil metabólico da prole. Estes achados foram obtidos da prole de mães expostas a uma dieta rica em frutose (65%). Concluem que a exposição à frutose, como constituinte nutricional, durante a gestação, altera o perfil proteico, levando a alterações na homeostase redox e alguns aspectos do metabolismo da prole.

O estresse oxidativo vem sendo relacionado como parte da fisiopatologia de várias doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e metabólicas, bem como no mecanismo dos distúrbios relacionados a erros inatos do metabolismo (MANCUSO et al., 2006; SGARAVATTI et al., 2007). Espécies reativas de oxigênio são caracterizadas como

um subproduto do metabolismo aeróbico, compreendendo, principalmente, aniões superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila que conferem reatividade a vários alvos em processos fisiológicos e patológicos (BRENNAN et al., 2017). Muito embora a maioria dos seres vivos sejam dotados de sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, o protocolo do estudo atual mostrou que em algumas circunstâncias estes sistemas foram inadequados para a manutenção de homeostase redox e, possivelmente, esse processo pode estar relacionado à hepatotoxicidade e nefrotoxicidade induzida pela ingestão de frutose.

No presente estudo, o tecido renal mostrou menor vulnerabilidade à ação da frutose em relação a parâmetros de estresse oxidativo, comparado ao tecido hepático. No entanto, neste tecido TBARS e grupamentos sulfidrila mostraram alterações estatisticamente significativas do grupo controle vs 20%; GSH controle vs 30%; SOD controle vs 65% e CAT controle vs 30 e 20%. No tecido alvo do estudo foram verificadas alterações na SOD demonstrando que houve desequilíbrio no homeostasia redox mitocondrial e pelos resultados da CAT é possível afirmar a ocorrência do aumento da concentração de H_2O_2 citosólico.

Estudos conduzidos por Mellor et al. (2010) mostraram que a administração aguda de frutose induziu estresse oxidativo no tecido cardíaco e hepático de ratos. Outro achado importante com a utilização deste protocolo foi a indução de disfunção mitocondrial e

apoptose em músculo esquelético (GARNOL et al., 2014; JAISWAL et al., 2015). As alterações do metabolismo, independentemente da sua causa, podem desencadear efeitos deletérios sobre a função celular e sua sobrevivência (CADENAS; DAVIES, 2000). Crescenzo (2018) descreve que a dieta rica em frutose aumentou o conteúdo lipídico de ratos adultos e a inflamação foi associada com dano oxidativo aos lipídios hepáticos em ratos jovens e adultos.

Conclusões

Os resultados mostraram, no que concerne ao peso e número dos fetos, houve alterações estatisticamente significativas. Estes achados foram mais acentuados para os grupos onde a concentração de frutose adicionada à dieta foi maior, possivelmente indicando que os efeitos deletérios sejam dose-dependente

Em linhas gerais, considerando os resultados oriundos dos testes bioquímicos, o estudo mostrou distúrbios no metabolismo lipídico, glicêmico, da função hepática e renal, definidos pelas taxas de colesterol, glicemia além de alteração de enzimas hepáticas, estresse oxidativo e taxas de função renal. Estas alterações colocam em evidência os malefícios da ingestão de açúcar e estes resultados deveriam ser considerados na prática alimentar humana, assim como para o estabelecimento de políticas para o regramento aplicado à indústria de alimentos.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in vivo. *Methods in Enzymology*, n.105, p.121-126, 1984.
- ALMEIDA, B. F. M. **Estresse oxidativo na leishmaniose visceral canina**. Fisiologia Médica e Cirúrgica. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, São Paulo, 2013.

- AKSENOV, M. Y.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum. *In: Alzheimer disease. Neurosc Letters*, n. 302, v. 2, p.141-145, 2001.
- BANNISTERS, J.V.; CALABRESE, L. Assay for sod. **Meth Biochem**, n. 32, p.279-312, 1987.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. de C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev Nutr.**, v.23, n. 4, p.43-629, 2010.
- BARREIROS, R. C.; BOSSOLAN, G.; TRINDADE, C. E. P. Fructose in humans: Metabolic effects, clinical utilization, and associated inherent errors. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 3, p. 377-389, 2005.
- BIZEAU, M. E.; PAGLIASSOTTI, M. J. Hepatic adaptations to sucrose and fructose. **Metab Clin Exp.**, v. 54, n. 9, p. 1189-1201, 2005.
- BONAFE, C. F. S.; BISPO, J. A.C.; DE JESUS, M. B. The Polygonal Model: A Simple Representation of Biomolecules as a Tool for Teaching Metabolism. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 46, n. 1, p. 66-75, 2018.
- BRADFORD, M. M. Um método rápido e sensível para a quantificação de quantidades de microgramas de proteína utilizando o princípio da ligação proteína-corante. **Bioquímica analítica**, n. 72, v. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 306, de 07 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. **Diário Oficial da União**. (DF) 2004.
- BRASIL. Ministro de Estado da Ciência, Tecnologia e Inovação. **Portaria MCTI Nº 465, de 23 de maio de 2013**. Aprova a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização e Animais para fins Científicos e Didáticos - DBCA. Brasília, 2013.
- BRENNAN, L.; KHOURY, J.; KANTOROW, M. Parkin elimination of mitochondria is important for maintenance of lens epithelial cell ROS levels and survival upon oxidative stress exposure. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1863, n. 1, p. 21-32, 2017.
- BURK, R. F.; LEVANDER, O. A. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. 9. ed., Manole: São Paulo, 2002, vol. I., cap. 14.
- CAMPOS, V. C.; TAPPY, L. Physiological handling of dietary fructose-containing sugars: implications for health. **International Journal of Obesity**, v. 40, p. 6-11. 2016.
- CADENAS, E.; DAVIES, K. J. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. **Free Radic Biol Med.**, v. 29, n. 3-4, p. 222-230, 2000.
- CARVALHO, A. C. **Efeitos do consumo de diferentes concentrações de frutose sobre parâmetros bioquímicos de camundongos**. Dissertação de Mestrado da Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, 2018.
- CRESCENZO, R.; CIBLIANO, L.; MAZZOLI, A.; CANCELLIERE, R.; CAROTENUTO, R.; TUSSELLINO, M.; LIVERINI, G.; LOSSA, S. Early Effects of a Low Fat, Fructose-Rich Diet on Liver Metabolism, Insulin Signaling, and Oxidative Stress in Young and Adult Rats. **Frontiers in Physiology**, v. 9, artigo 411, 2018.
- ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods Enzymol.**, n. 186, p. 407-21, 1990.
- DESPRES, J. P.; LEMIEUX, I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. **Nature**, v. 444, p. 881-887, 2006.

- DEKKER, M. J.; SU, Q.; BAKER, C.; RUTLEDG, A. C.; ADELI, K. Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 299, p. E685-E694, 2010.
- DYCK, D. J.; HEIGENHAUSER, G. J.; BRUCE, C. R. The role of adipokines as regulators of skeletal muscle fatty acid metabolism and insulin sensitivity. **Acta Physiol.**, v.186, p. 5-16, 2006.
- FERREIRA, S. S. **Frutose e a Síndrome Metabólica**. 2010. 51 f. Monografia - Universidade do Porto, 2010. Disponível em: https://repositorio.aberto.up.pt/bitstream/10216/54707/3/138150_1018TCD18.pdf
- FLOHÉ, L.; GÜNZLER, W. A. Assays of glutathione peroxidase. **Methods Enzymol.** n.105, p. 114-21, 1984.
- GARNOL, T.; ENDLICHER, R.; KUCERA, O.; DRAHOTA, Z.; CERVINKOVÁ, Z. Impairment of mitochondrial function of rat hepatocytes by high fat diet and oxidative stress. **Physiol Res.**, v. 63, n. 2, p. 271-274, 2014.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. Oxisford, 2007.
- HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 70, n. 5, p. 257-265, 2012.
- HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science**, v. 259, p. 87-91, 1993.
- JAIWAL, N.; MAURYA, C. K.; ARHA, D.; AVISETTI, D. R.; PRATHAPAN, A.; RAJ, P. S.; RAGHU, K. G.; KALIVENDI, S. V.; TAMRAKAR, A. K. Fructose induces mitochondrial dysfunction and trigger apoptosis in skeletal muscle cells by provoking oxidative stress. **Apoptosis**, v. 20, n. 7, p. 930-947, 2015.
- LÊ, K-A; TAPPY, L. Metabolic effects of fructose. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care.*, v. 9, n. 4, p. 469-475, 2006.
- MAGENIS, M. **Efeitos do consumo de frutose sobre a instabilidade genômica e parâmetros bioquímicos em camundongos swiss fêmeas tratadas durante a gravidez e lactação e na sua prole**. 2018. 83 f. Dissertação de Mestrado - Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, CRICIÚMA, 2018.
- MANCUSO, M.; COPPEDE, F.; MIGLIORE, L.; SICILIANO, G.; MURRI, L. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress and neurodegeneration. **J Alzheimer Dis.**, v. 10, n. 1, p.59-73, 2006.
- MELLOR, K.; RITCHIE, R. H.; MEREDITH, G.; WOODMAN, O. L.; MORRIS, M.J.; DELBRIDGE, L. M. High-fructose diet elevates myocardial superoxide generation in mice in the absence of cardiac hypertrophy. **Nutrition**, v. 26, n. 7-8, p. 842-848, 2010.
- MENESES, L. J.; DENOVA, G. E.; CASTAÑÓN, R. S. et al. Sweetened beverage consumption and the risk of hyperuricemia in Mexican adults: a cross-sectional study. **BMC Public Health**, v. 14, n. 445, p. 1-11, 2014.
- MOURA, R. F.; CAMBRI, L. T.; DE QUADROS, A. C.; NASCIMENTO, C. M. C.; ARANTES, L. M.; SEBASTIÃO, E.; TANAKA, K.; PAPINI, C. B.; OLIANI, M. M.; MOTA, C. S. D. A.; RIBEIRO, C.; MELO, M. A. R. Capacidade aeróbia de ratos alimentados com dieta rica em frutose. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 14, n. 5, p. 422-426, 2008.
- NELSON, K.Y.; LEHNINGER, A. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier; 2000.
- NETTO, C. B.; SIQUEIRA, I. R.; FOCHESSATTO, C.; PORTELA, L. V.; TAVARES, M. D. P.;

- SOUZA, D. O.; GIUGLIANI, R.; GONÇALVES, C. A. S100B content and SOD activity in amniotic fluid of pregnancies with Down syndrome. **Clinical Biochemistry**, v. 37, n. 2, p. 134-137, 2004.
- OJEDA, M. L.; CARRERAS, O.; Del VALLE, P. M.; MURILLO, L.; NOGALES, F. Fructose exposure during gestation and lactation altered hepatic selenoprotein expression, oxidative balance and metabolic profile in female rat pups. **Journal of Functional Foods**, v.43, p. 77-83, 2018.
- PINHEIRO, A. R. de O.; GENTIL, P. C. **A iniciativa de incentivo ao consumo de frutas, verduras e legumes: uma estratégia para abordagem intersectorial no contexto da Segurança Alimentar e Nutricional (CONSEA – Brasil)**, 2005. Disponível em: www.Sban.com.br/educacao/pesquisa/documents/documentos.base_sem_alimentacao.pf.
- QIN, T.; XIAOQIN, Z.; WANG, J.; XINYU, W.; LI, Y.; WANG, L.; HUANG, H.; LI, J. Hyperuricemia and the Prognosis of Hypertensive Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. **The Journal of Clinical Hypertension**, p.1-11, 2016.
- SABEN, J. L.; ZEENAT, A.; JULIE, S. R.; ANDREA, D.; SUZANNE, S.; KELLE, H. M. Excess maternal fructose consumption increases fetal loss and impairs endometrial decidualization in mice. **Endocrinology**, v. 157, p. 956-968, 2016.
- SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, J. C.; BENLLOCH, T; LEAL, M. A.; SAMPER, B; GARCIA-RIPOLI, I; FELÍU, J.E. Molecular analysis of the aldolase B gene in patients with hereditary fructose intolerance. **J Med Genet**, v. 9, n. 1, p. 39-56, 2002.
- SCAGLIUSI, F. B.; CARDOSO, M. A. **Nutrição e dietética**. Guanabara Koogan, 2. ed., 2019.
- SCHAFER, F. Q.; BUETTNER, G. R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 30, n. 11, p. 1191-1212, 2001.
- SHACHTER, N. S. Apolipoproteins C-I and C-III as important modulators of lipoprotein metabolism. **Curr Opin Lipidol**, v.12, p. 297-304, 2001.
- SGARAVATTI, A. M.; SGARBI, M. B.; TESTA, C. G.; DURIGON, K.; PEDERZOLLI, C. D.; PRESTES, C. G.; WYSE, A. T.; WANNMACHER, C. M.; WAJNER, M.; DUTRA-FILHO, C. S. g- Hydroxybutyric acid induces oxidativestress in cerebral cortex of Young rats. **Neurochem Int**, v. 50, p. 564-70, 2007.
- SINGH, C.R.; HE, H.; YAMAMOTO, M. Y.; ASNO, K. Efficient incorporation of eukaryotic initiation factor 1 into the multifactor complex is critical for formation of functional ribosomal preinitiation complexes in vivo. **J Biol Chem**, v. 279, n. 30, p. 31910-20, 2004.
- SMITH C. M.; MARKS, A.; LIEBERMAN, M. **Marks' Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach**. 2. ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. 238 p, 2005.
- STANHOPE, K. L.; SCHWARZ, J. M.; KEIM, N. L.; GRIFFEN, S. C.; BREMER, A. A.; GRAHAM, J. L.; HATCHER, B.; COX, C. L.; DYACHENKO, A.; ZHANG, W.; MCGAHAN, J.P.; SEIBERT, A.; KRAUSS, R. M.; CHIU, S.; SCHAEFER, E. J; AI, M.; OTOKOZAWA, S.; NAKAJIMA, K.; NAKANO, T.; BEYSEN, C.; HELLERSTEIN, M. K.; BERGLUND, L.; HAVEL, P. J. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. **J Clin Invest**, v.119, p. 1322-1334, 2009.
- STERN, J.S. Relationship of plasma leptin to plasma insulin and adiposity in normal weight and overweight women: effects of dietary fat content and sustained weight loss. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 81, p. 4406-4413, 1996.
- SU, Q. et al. Apolipoprotein B100 acts as a molecular link between lipid-induced endoplasmic reticulum stress and hepatic insulin resistance. **Hepatology**, v. 50, p. 77-84, 2009.

TALAAAT, K. M.; EL-SHEIKH, A. R. The effect of mild hyperuricemia on urinary transforming growth factor beta and the progression of chronic kidney disease. **Am J Nephrol.**, v. 27, p. 435-440, 2009.

TSAI, N-W; CHANG, Y-T; HUANG, C-R; LIN, Y-J; LIN, W-C; CHENG, B-C; SU, C-M; CHIANG, Y-F; CHEN, S-F; HUANG, C-C; CHANG, W-N; LU, C-H. “Associação entre estresse oxidativo e resultado em diferentes subtipos de AVC isquêmico agudo”. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1-7, 2014.

WANG, Y. M.; VAN EYS, J. Nutritional significance of fructose and sugar alcohols. **Ann Rev Nutr.**, v.1, p.437-75, 1981.