

Influência da frutosemia crônica sobre parâmetros de crescimento e desenvolvimento, maternos, fetais, bioquímicos e estresse oxidativo de ratas wistar

Influence of chronic fructosemia on maternal, fetal, biochemical parameters of growth and development and oxidative stress in wistar rats

DOI: 10.46814/lajdv3n2-026

Recebimento dos originais: 23/12/2020

Aceitação para publicação: 26/02/2021

Luana Zin

Acadêmica do Curso de Graduação em Enfermagem da URI – Erechim

Ana Tonello

Acadêmica do Curso de Graduação em Enfermagem da URI – Erechim

Silvane Souza Roman

Doutora em Ciências Biológicas pela UFSM-RS

Luiz Carlos Cichota

Doutor em Ciências Farmacêuticas pela UFSM-RS

Alexandre Umpierrez Amaral

Doutor em Ciências Biológicas: Bioquímica pela UFRGS

Irany Achilles Denti

Doutor em Ciências da Saúde pela UNIESC-SC.

E-mail: iranyd@uricer.edu.br

RESUMO

Neste estudo objetivamos descrever os efeitos da administração crônica de frutose sobre parâmetros gestacionais, crescimento e desenvolvimento, bioquímicos e estresse oxidativo de ratas Wistar. Trata-se de um experimento onde foram utilizadas duas gerações de ratas (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar prenhas, provenientes do Biotério da URI distribuídas nos grupos controle (6 animais) e tratado (24 animais). Após a constatação da prenhez os animais foram separados em grupos, tratados com ração contendo frutose nas concentrações (65,40,30 e 20%) da ração diária contendo frutose e as do grupo controle recebeu ração normal. Os resultados mostraram alterações no peso ao desmame da primeira geração, no número e no peso dos fetos da segunda geração, comparados aos controles. Testes bioquímicos mostraram alterações estatisticamente significativas na ureia, creatinina, colesterol total, triglicerídeos e glicemia. A enzima Aspartato Amino Transferase (AST) e Alanina Amino Transferase (ALT) mostraram alterações para os grupos 65 e 20%. No tecido hepático as concentrações do ácido tiobarbitúrico (TABRS) mostrou alterações para os grupos 40 e 20%; sulfidrilas para o grupo 20%; atividade da Glutathiona Oxidada (GSH) para os grupos 40 e 30% e Catalase (CAT) para o grupo 30%. Os mesmos marcadores mostraram alterações para TBARS e sulfidrilas para o grupo 20%; GSH para o grupo 30%; Superóxido Dismutase (SOD) para o grupo 65% e CAT nos grupos 30 e 20%, no tecido renal, comparados ao grupo controle. Os dados são consistentes e evidenciam o envolvimento da frutose na redução da fecundidade, na gênese de distúrbios do metabolismo lipídico, glicêmico, da função hepática, renal e indução do estresse oxidativo. O estudo aponta para a vulnerabilidade do

período gestacional relativo a ingestão de dietas ricas em frutose e a redução do consumo seria promissora para a prevenção do baixo peso ao nascer, dos distúrbios devidas ao metabolismo hepático, renal, lipídico, glicêmico e de estresse oxidativo.

Palavras-chave: Frutose, estresse oxidativo, metabolismo.

ABSTRACT

In this study we aimed to describe the effects of chronic administration of fructose on gestational, growth and development, biochemical and oxidative stress parameters of Wistar rats. This is an experiment in which two generations of pregnant Wistar rats (*Rattus norvegicus*) from the URI bioterium were distributed in control (6 animals) and treated (24 animals) groups. After the pregnancy was confirmed, the animals were separated in groups, treated with fructose-containing feed in concentrations (65, 40, 30 and 20%) of the daily ration containing fructose and the control group received normal feed. The results showed changes in weaning weight of the first generation, number and weight of fetuses of the second generation compared to the controls. Biochemical tests showed statistically significant changes in urea, creatinine, total cholesterol, triglycerides, and blood glucose. The enzyme Aspartate Amino Transferase (AST) and Alanine Amino Transferase (ALT) showed changes for the 65 and 20% groups. In the liver tissue the Thiobarbituric Acid Concentrations (TBARS) showed changes for the 40 and 20% groups; sulfhydryls for the 20% group; Glutathione Oxidase (GSH) activity for the 40 and 30% groups, and Catalase (CAT) for the 30% group. The same markers showed changes for TBARS and sulfhydryls for the 20% group; GSH for the 30% group; Superoxide Dismutase (SOD) for the 65% group and CAT in the 30 and 20% groups, in renal tissue, compared to the control group. The data are consistent and highlight the involvement of fructose in reducing fertility, in the genesis of disorders of lipid and glucose metabolism, liver and kidney function, and in induction of oxidative stress. The study points to the vulnerability of the gestational period relative to the intake of fructose-rich diets and reduced consumption would be promising for prevention of low birth weight, liver, kidney, lipid, glucose metabolism, and oxidative stress disorders.

Keywords: Fructose, oxidative stress, metabolism.

1 INTRODUÇÃO

A frutose é constituinte do dissacarídeo sacarose, encontrada em determinados alimentos ou como ingrediente natural em alimentos industrializados. Estruturalmente, na natureza este carboidrato pode ser encontrado como trissacarídeo, tetrassacarídeo, como a rafinose (trissacarídeo) e a estaquiase (tetrassacarídeo) (BROOKS et al., 2010). Estas variantes químicas estruturais são comumente encontradas em alimentos como soja, lentilha, ervilha e feijão. Este carboidrato também é encontrado em outras leguminosas como a cebola, chicória e aspargos. Neste caso são descritos como frutanos ou inulina (Smith et al., 2005) e para a digestão completa necessitam a ação de bactérias comensais presentes no intestino grosso (KOAY et al., 2014).

Outro mecanismo envolvido na síntese de frutose está relacionado ao metabolismo da sacarose no intestino delgado, necessitando, neste caso, a ação da sacarase (SMITH et al., 2005). Este processo bioquímico quebra a sacarose (dissacarídeo) em dois monossacarídeos (glicose e frutose), necessitando ser

absorvida pelo transportador independente de glicose 5 (GLUT 5). No enterócito, a frutose se difunde nos vasos sanguíneos através de um transporte mediado por GLUT2 no polo basolateral do enterócito (DOUARD; FERRARIS, 2008). No enterócito, parte da frutose é convertido em lactato e liberada na circulação do sistema porta (BIZEAU; PAGLISSOTTI, 2005).

Nos hepatócitos, a frutose é fosforilada em uma reação mediada pela enzima frutoquinase, necessitando da ação ou mediação da enzima hexoquinase, gerando a frutose-1-fosfato. Essa é clivada em duas trioses, gliceraldeído-3-fosfato e dihidroxiacetona, necessitando, para esta reação química a ação da enzima aldolase B (PINTO et al., 2018). Estes carboidratos (trioses) podem ser utilizados de diferentes formas e por este motivo podem seguir rotas metabólicas distintas: Se a utilização for pela via glicolítica é fosforilada a glicose-6-fosfato, fornecem piruvato e trifosfato de adenosina (ATP); se forem submetidos à ação química podem ser reduzidas a glicerol, fosfolipídios e outros lipídios; havendo processo de condensação formam a frutose-1,6 difosfato e, por este processo, como resultado final, sintetizar glicose ou glicogênio (HALLFRISCH, 1990). A utilização pelas células não depende da ação da insulina, mas o seu metabolismo necessita da ação das enzimas frutoquinase, aldolase tipo B e tioquinase (HERS, 1952).

Como resultado do consumo excessivo de frutose o processo metabólico leva a formação de elevadas quantidades de acetil-CoA, o 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 detectados através de exames bioquímicos ácidos graxos como a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), triglicerídeos (TG), lactato e glicose (LÊ; TAPPY, 2010).

Este carboidrato é uma espécie de açúcar utilizado frequentemente na culinária como adoçante. Em determinado momento este produto já foi recomendado inclusive para diabéticos por não haver a necessidade da ação da insulina para o seu aproveitamento nutricional. Frutosemia é caracterizada por aumento importante das concentrações de frutose em tecidos e fluidos biológicos após a ingestão ou administração de frutose (STEPHAN et al., 2001). Em consequência da sua empregabilidade e custo, seu consumo tem aumentado vertiginosamente, acompanhando o drástico aumento da industrialização (WHITE, 2008), e por suas características este carboidrato, encontrou amplo espaço para o seu emprego em muitos alimentos e bebidas industrializadas, dos quais os adolescentes e adultos jovens são os maiores consumidores, podendo induzir, dependendo do volume ingerido, a alterações do metabolismo, como o aumento de triglicérides, colesterol, resistência insulínica, e esteatose hepática. (GAINO & SILVA, 2011).

Estudos em animais e seres humanos vem demonstrando alterações do perfil lipídico com aumento de triglicerídeos, hipertensão arterial sistêmica e estresse oxidativo após a ingestão de dieta contendo frutose, aumento da síntese de gordura pela maior síntese hepática de glicerol e ácidos graxos (TAIN et al, 2018). O aumento da atividade das enzimas lipogênicas no fígado e como consequência a maior síntese de lipídios,

gera níveis elevados de lipídios totais na circulação e de lipoproteínas de muito baixa densidade (BARREIROS, BOSSOLAN & TRINDADE, 2005).

A ingestão de nutrientes com altas taxas calóricas em seres humanos manifestam-se na forma do aumento da massa corporal e nos distúrbios metabólicos marcadamente implicados no desenvolvimento das doenças do aparelho cardiocirculatório, possivelmente decorrentes do aumento da pressão arterial sistêmica, do metabolismo lipídico e glicêmico (MAMIKUTTY et al., 2014). Esta tendência que pode ser denominada comportamento alimentar vêm acompanhando os processos de industrialização e urbanização, possivelmente fazendo parte da globalização. Este é um panorama global e que parece estar bem estabelecido. Contudo, com a ingestão de produtos industrializados, a estimativa do real quantitativo ingerido para gerar alterações metabólicas e estas determinarem distúrbios em órgãos, aparelhos e sistemas ainda permanece desconhecido.

Em consequência da ingestão excessiva de frutose e seus efeitos danosos a funções orgânicos, possivelmente, estes possam determinar distúrbios no sistema oxidante-antioxidante, conhecido como estresse oxidativo. Estresse oxidativo é um distúrbio no balanço entre substâncias pró-oxidantes e antioxidantes, gerando assim, dano oxidativo em biomoléculas e posteriormente afetando células e tecidos gerando déficit ou perda da função de tecidos ou órgãos (Halliwell & Whiteman, 2004). A síntese de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) são parte integrante do metabolismo bem como necessárias para funções como a fagocitose (Peña-Oyarzun et al., 2018).

As ERO e ERN ocorrem tanto em processos fisiológicos quanto patológicos do organismo. Fisiologicamente essas espécies reativas apresentam diversas funções. Assim, um aumento na formação de radicais livres pode ser benéfico, como é o caso da liberação de espécies tóxicas oxidantes pelos neutrófilos, que podem atuar na defesa do hospedeiro contra uma infecção (LOPES et al., 2014). Participam ainda de processos de sinalização celular e também estão envolvidos na síntese e regulação de algumas proteínas (Halliwell e Gutteridge, 2007).

A maioria dos estudos envolvendo a frutose objetivaram elucidar questão relacionadas a Erros Inatos do Metabolismo. Quando relacionados a ingestão ou administração deste carboidrato foram direcionados para estimar aspectos da síndrome metabólica, obesidade, diabetes mellitus, resistência a insulina e doenças atribuídas ao metabolismo Bermejo-Millo et al, 2018). Outros estudos correlacionaram a ingestão de frutose com comprometimento da cognição, esteatose hepática, distúrbios na função redox e obesidade Yamazaki et al, 2018). Contudo, estes estudos abordam os efeitos da frutose, em sua maioria, por curtos espaços de tempo. Entretanto, as repercussões destes padrões dietéticos no crescimento e desenvolvimento e subsequentemente na gestação ainda carecem de estudos.

Muito embora sejam encontrados muitos estudos demonstrando os efeitos sistêmicos e prejudiciais do consumo excessivo de frutose, existem poucas pesquisas mostrando seus efeitos sobre parâmetros gestacionais. Seguindo este raciocínio, objetivo do presente trabalho foi evidenciar possíveis alterações em

parâmetros gestacionais, distúrbios do metabolismo hepático, dano renal e estresse oxidativo induzidos pela ingestão crônica de dieta rica em frutose em matrizes prenhas de ratas Wistar.

2 MÉTODOS

Trata-se de um experimento onde, inicialmente, foram utilizadas 30 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 condicionamento 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 prenhas foram detectadas pela coleta de material do canal vaginal através de esfregaço, disposto em lâminas e visualizado em microscópio óptico. À 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%) da ração diária contendo frutose e as do grupo controle recebeu ração normal. Estes grupos de animais, compondo a primeira geração, foram mantidos com este regime alimentar durante a gestação assim como no período de lactação. Ao desmame foram identificadas 36 fêmeas provenientes da primeira geração. Estas foram mantidas com a mesma dieta até completarem 60 dias de vida. Nesta fase, foi suspensa a dieta, introduzido ração normal durante o período de acasalamento com machos da mesma espécie (aproximadamente cinco dias). No momento da detecção da prenhas as matrizes foram separadas dos machos e foi reintroduzida a dieta proposta para cada grupo descrito inicialmente, até o 19º dia de gestação. A eutanásia ocorreu no 19º dia de gestação com administração de Zoletil 50mg/kg (IP) e após exsanguinação por punção cardíaca. Neste momento foi coletado o sangue e estruturas maternas e fetais.

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 e Cheeseman (1990). Para a determinação de Sulfidrilas Totais foi utilizado o método descrito por Aksenov e Markesbery (2001). A catalase (CAT) foi determinada a atividade desta enzima através do método de Aebi (1984). A atividade da SOD foi medida em homogenatos de fígado e rim foi 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. A atividade da peroxidase foi medida pelo monitoramento da na presença de redução da glutathiona para hidróperóxido de hidrogênio (H_2O_2), de acordo com Salat et al. (2014). Todas as medições das amostras foram normalizadas para o teor de proteína e avaliado pelo método de Bradford (atividades enzimáticas) ou pelo método BCA (glutathiona total).

A Frutose PA[®] foi adquirida da empresa Labsynth Produtos para Laboratório e o produto foi disponibilizado aos animais sob a forma de biscoitos. As matrizes do grupo controle receberam ração padrão,

estabelecido por Reeves (1993) e posteriormente recomendado pelo relatório do Instituto Americano de Nutrição para Roedores de Laboratório (PHILIP et al., 2009).

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 projeto foi aprovado pela CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais - URI Erechim). Todos os esforços foram feitos para minimizar o número de animais utilizados e seu sofrimento.

A análise bioquímica foi efetuada com Kits comerciais Labtest[®]. Para definir o estresse oxidativo foram utilizados protocolos-padrão. 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.

3 RESULTADOS

Os dados inseridos abaixo referem-se a ingestão (crônica) 90 dias ou mais de frutose, onde foi avaliada a influência deste carboidrato sobre a fecundidade, crescimento e desenvolvimento, função renal, hepática e estresse oxidativo da segunda geração de ratas Wistar.

Inicialmente serão mostrados os resultados do peso ao desmame da primeira geração, subsequentemente o peso inicial e final das matrizes da segunda geração, número e peso dos fetos ao 19º dia de gestação da segunda geração. Ao final serão apresentados dados de testes bioquímicos da função renal e hepática e análise de marcadores de estresse oxidativo destes órgãos.

Visto que se trata de um estudo onde os resultados expostos dizem respeito a segunda geração de ratas Wistar, a figura (I-A) mostra o peso ao desmame da primeira geração, onde as progenitoras também ingeriram a dieta proposta pelo protocolo no período gestacional. Nestas a média do peso ao desmame do grupo controle foi $38,27 \pm 8,14$; grupo 65% $20,03 \pm 1,46$; grupo 40% $32,65 \pm 4,62$; grupo 30% $33,57 \pm 2,61$; grupo 20% $39,03 \pm 3,08$. Os resultados mostraram diferença estatisticamente significativa do grupo controle vs 65% ($p < 0,001$); 40%; ($p < 0,01$) e 30% ($p < 0,05$), comparado ao controle. Adicionalmente os dados apontaram diferenças entre os grupos tratados, mostrando maior significância na comparação dos grupos 65 e 20% ($p < 0,001$).

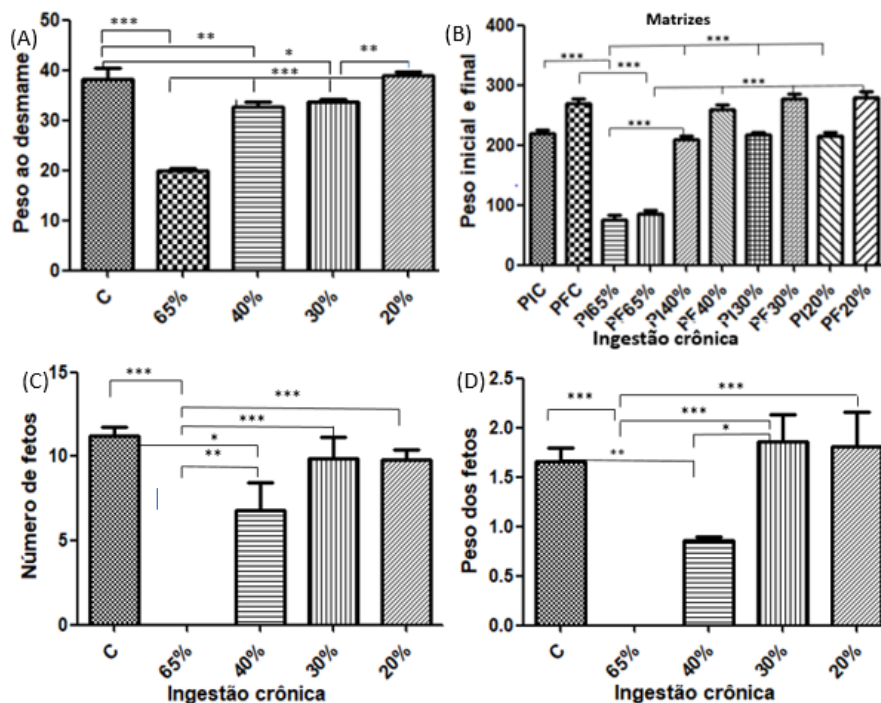
A prole de fêmeas oriundas da primeira geração foi mantida com o mesmo regime alimentar até completar sessenta dias de vida. Nesta fase, a dieta foi suspensa no período do acasalamento (aproximadamente cinco dias) e reiniciada após este período e mantida até o 19º dia da gestação. Nesta etapa, os parâmetros maternos e fetais quanto a média do peso das matrizes (figura I-B) mostrou que o peso inicial do grupo controle foi ($220,25 \text{g} \pm 14,95$) e peso final ($269,34 \pm 24,54$); grupo 65% ($76,17 \text{g} \pm 16,13$) e ($85,98 \pm 11,43$); 40% ($209,67 \text{g} \pm 11,78$) e ($260,11 \pm 17,01$); 30% ($216,97 \text{g} \pm 10,07$) e ($276,63 \text{g} \pm 26,11$); 20%

214,83g±15,12 e 279,15±26,10, peso inicial e final, respectivamente. A mesma figura mostra diferença estatisticamente significativa do grupo controle vs 65% ($p<0,001$), no peso inicial e final e o mesmo resultado entre os grupos.

Quanto ao número de fetos, mostrado na figura (I-C) para o grupo controle a média foi 9,33±4,72; grupo 65% não houve prenhes tampouco gestação; grupo 40% 7,60±3,2; grupo 30% 9,88±3,64; grupo 20% 9,80±1,30. Os dados estatisticamente mais relevantes dizem respeito ao número de fetos do grupo controle vs 65% ($p<0,001$); controle vs 40% ($p<0,05$), além de alterações entre os demais grupos ($p<0,001$).

No que diz respeito ao peso dos fetos, (figura I-D), a média para o grupo controle foi 1,51±0,29; grupo 40% 0,93±0,20; grupo 30% 1,85±0,80; grupo 20% 1,81±0,79. A mesma figura mostra o baixo peso do grupo 40% ($p<0,01$), comparado ao grupo controle.

Figura I – Efeitos sobre parâmetros materno-fetais da ingestão de frutose na segunda geração de ratos Wistar. (A) Peso ao desmame da primeira geração; (B) peso inicial e peso final das matrizes da segunda geração. PIC= peso inicial e PFC= Peso final do grupo controle; PI65%= Peso inicial do grupo tratado com frutose a 65%; PIF65%= Peso final do grupo 65%; PI40% Peso inicial do grupo 40%; PF40% final do grupo 40%; PI30%= Peso inicial e PF 30%= Peso final do grupo 30%; PI20% peso inicial e PF20% peso final do grupo 20%. (C) número de fetos: C= número de fetos do grupo controle; 65%= número de fetos do grupo 65%; 40%= número de fetos do grupo 40%; 30%= número de fetos do grupo 30%; 20%= número de fetos do grupo tratado com frutose a 20%. (D) Peso dos fetos: C = peso dos fetos do grupo controle; 65%= peso dos fetos do grupo 65%; 40%= peso dos fetos do grupo 40%; 30%= Peso dos fetos do grupo 30%; 20% = Peso dos fetos do grupo 20%. Parâmetros obtidos de ratos Wistar, em grupos de seis animais com dieta normal para o grupo controle e os demais com dieta (65%; 40%; 30% e 20%) de frutose adicionado à ração por 90 dias. Os dados representam média ± erro padrão e a significância estatística foi definida por * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, obtida por ANOVA de uma via com teste *t* para comparações múltiplas.



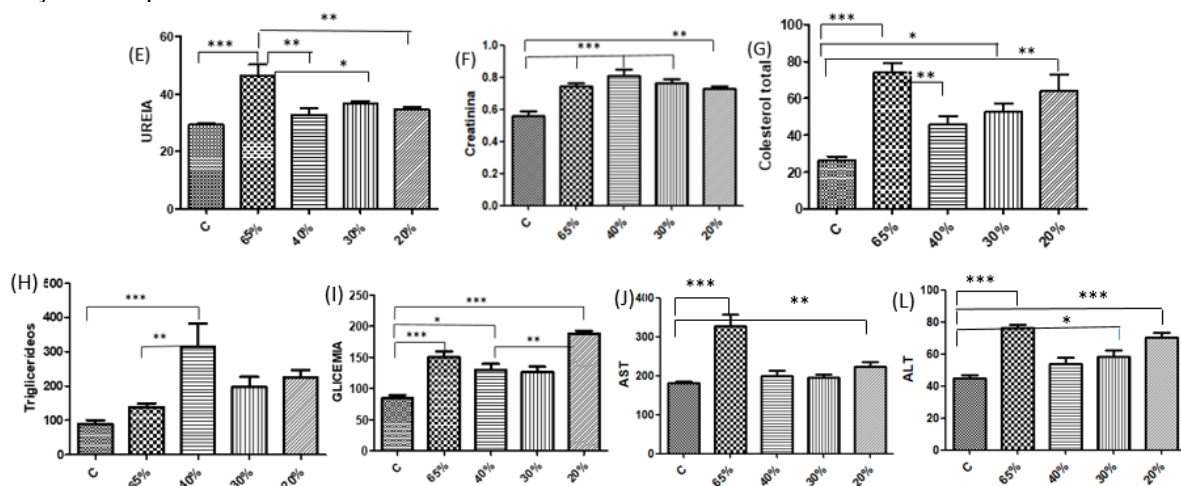
A função renal foi estimada através das taxas de ureia e creatinina (figura II-E, II-F). Os resultados mostraram diferença estatisticamente significativa, nas taxas de ureia do grupo controle com o grupo 65%

($p < 0,001$) e deste com os grupos 40, 30 e 20% ($p < 0,01$). As taxas de creatinina mostraram alterações com significância estatística do grupo controle vs 65, 40 e 30% ($p < 0,001$) e C vs 20% ($p < 0,01$). Por outro lado, as taxas de colesterol total, apresentadas na figura II-G mostraram alterações expressivas ($p < 0,001$) entre o grupo controle vs 65%, controle vs 30% ($p < 0,05$) e controle vs 20% ($p < 0,01$). Adicionalmente este marcador também mostrou alterações entre o grupo 65 e 40% ($p < 0,01$).

As taxas de triglicerídeos (figura II-H) mostraram-se estatisticamente significativas do grupo controle comparado com o grupo 40% ($p < 0,001$) e deste com o grupo 65% ($p < 0,01$). Outra alteração importante diz respeito as taxas de glicemia (figura II-I). Todos os grupos tratados com frutose mostraram taxas aumentadas comparadas ao controle, não havendo significância estatística somente para o grupo 30%: grupo controle vs 65% e 20% ($p < 0,001$) e controle vs 40% ($p < 0,05$). Adicionalmente, também há alteração do 40 vs 20% ($p < 0,01$).

A função hepática foi estimada através das enzimas AST e ALT (figura II-J e II-L), cujos resultados mostraram, para ALT, significância estatística do grupo controle com 65 e 20% ($p < 0,001$) e controle vs 30% ($p < 0,05$). A enzima ALT, mostrou alterações com a significância estatística definida na metodologia do grupo controle vs 65% e 20% ($p < 0,001$), controle vs 30% ($p < 0,05$).

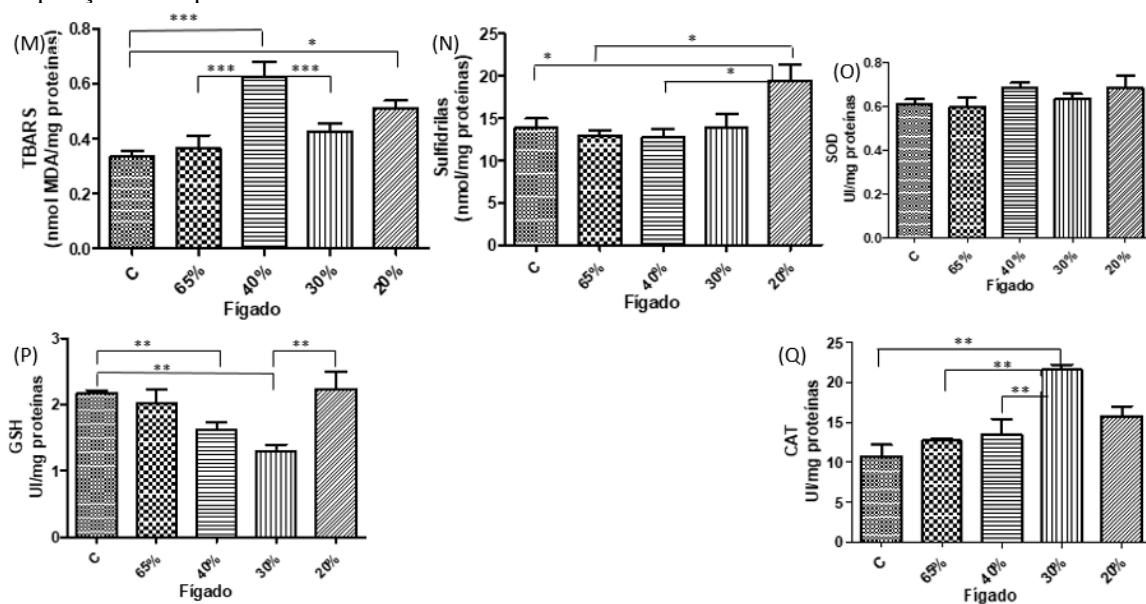
Figura II - Efeito da ingestão de frutose da segunda geração de ratos Wistar sobre marcadores da função renal, hepática, metabolismo lipídico e glicêmico. A função renal foi estimada através das taxas de ureia e creatinina. Para o metabolismo lipídico foram utilizadas as taxas de colesterol total e triglicerídeos. A função hepática foi estimada através das enzimas AST e ALT. (E) Níveis séricos de ureia; (F) Níveis séricos de creatinina; (G) Níveis séricos de colesterol total; (H) níveis séricos de triglicerídeos; (I) níveis séricos de glicemia; (J) níveis séricos de AST; (L) níveis séricos de ALT. Parâmetros obtidos de seis ratos Wistar, com dieta normal para o grupo controle "C" e os demais com dieta (65%; 40%; 30% e 20%) de frutose adicionado à ração durante 90 dias. A significância estatística foi definida por * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, obtida por ANOVA de uma via com teste *t* para comparações múltiplas.



No estudo atual, no tecido hepático, TBARS (figura III-M), mostrou alterações estatisticamente significativas do grupo controle vs 40% ($p < 0,001$) e controle vs 20% ($p < 0,05$). Adicionalmente, os resultados também mostraram alterações entre os grupos 65% vs 40% e 30% ($p < 0,001$).

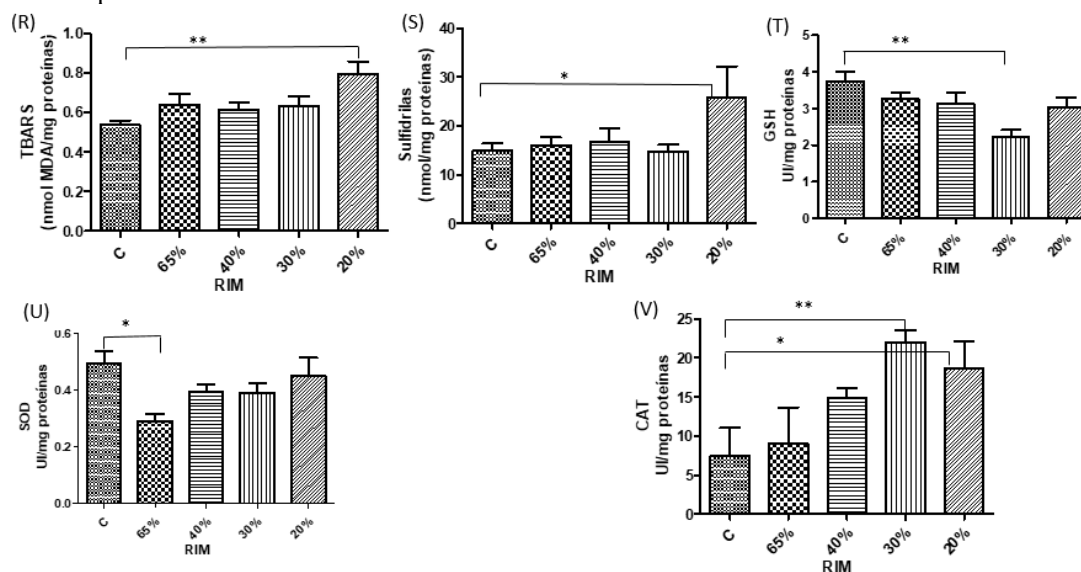
A figura (III-N) mostra que o conteúdo de sulfidrilas apresentou resultados com relevância estatística ($p < 0,05$) entre o grupo controle vs 20%. Adicionalmente foram verificados resultados similares entre os grupos que ingeriram frutose nas concentrações propostas pelo protocolo, ($p < 0,05$) do grupo 65 vs 20% e 40 vs 20%, com a mesma significância estatística. Neste tecido a SOD não mostrou alterações compatíveis com as definições para a análise estatística, quanto a sua significância (figura III-O). Por outro lado, a GSH (figura III-P), mostrou alterações estatisticamente significativas do grupo controle vs 40% e 30% ($p < 0,01$). Também foi verificado alteração entre os grupos 30 e 20%. A catalase (figura III-Q), mostrou diferenças estatisticamente significativas entre o grupo controle vs 30% ($p < 0,01$), havendo também diferenças entre os grupos 65% vs 30% e 40 vs 30% ($p < 0,01$).

Figura III – Efeito da ingestão de frutose da segunda geração de ratas Wistar sobre marcadores TBARS, Sulfidrilas, GSH, SOD e CAT, no tecido hepática. (M) TBARS; (N) Sulfidrilas; (O) GSH; (P) SOD; (Q) CAT. Parâmetros obtidos de seis animais por grupo com dieta normal para o grupo controle “C” e os demais com dieta (65%; 40%; 30% e 20%) de frutose adicionado à ração durante 90 dias. A significância estatística foi definida por $*p < 0,05$, $**p < 0,01$, $***p < 0,001$, obtida por ANOVA de uma via com teste *t* para comparações múltiplas.



Pelo resultado dos testes visando elucidar aspectos do estresse oxidativo o tecido renal, mostraram alterações menos expressivas comparadas ao tecido hepático. No entanto, TBARS, e sulfidrilas (figura IV-R e IV-S), mostraram alterações estatisticamente significativas na comparação do grupo controle vs 20% ($p < 0,05$). Para GSH, (figura IV-T), as alterações com a significância estatística definidas na metodologia foram evidenciadas entre o grupo controle vs 30% ($p < 0,01$); SOD, (figura IV-U), do grupo controle vs 65% ($p < 0,05$) e CAT, (figura IV-V), do grupo controle vs 30% ($p < 0,01$) e controle vs 20% ($p < 0,05$).

Figura IV – Efeito da ingestão de frutose da segunda geração de ratas Wistar sobre marcadores TBARS, Sulfidrilas, GSH, SOD e CAT, no tecido renal. (R) TBARS; (S) Sulfidrilas; (T) GSH; (U) SOD; (V) CAT. Parâmetros obtidos de seis animais por grupo com dieta normal para o grupo controle “C” e os demais com dieta (65%; 40%; 30% e 20%) de frutose adicionado à ração durante 90 dias. A significância estatística foi definida por $p < 0,05$, $p < 0,01$, obtida por ANOVA de uma via com teste *t* para comparações múltiplas.



4 DISCUSSÃO

No presente estudo, através dos dados apresentados ficou caracterizada a influência da frutose sobre parâmetros do crescimento e desenvolvimento, gestacionais e fetais. O baixo peso encontrado ao desmame da primeira geração de ratas Wistar nos grupos em que as concentrações de frutose foram mais elevadas e a manutenção deste regime alimentar durante o crescimento e desenvolvimento não atenuou estas diferenças. As condições de baixo peso ao desmame, mantido durante o crescimento e desenvolvimento repercutiram no número e peso dos fetos da segunda geração, para os grupos onde a concentração de frutose foi mais acentuada.

Tain et al., (2018) em estudo envolvendo a gestação de ratas com suplemento de 60% de frutose, durante todo o período de gestação e lactação, concluíram que o consumo generalizado de dietas ricas em frutose está relacionado a epidemia de hipertensão arterial sistêmica e que esta, possivelmente possa estar relacionada a distúrbios na função renal, podendo ter origem no início da vida por combinação de agressões nutricionais pré-natais e pós-natais. Os autores também descrevem que as taxas de creatinina permaneceram normais, para este grupo de animais.

As taxas de ureia, no estudo atual, foram expressivamente aumentadas para todos os grupos, com destaque para o grupo 65% assim como para as taxas de creatinina, portanto diferentes dos resultados descritos no estudo supra citado. Estes resultados associados podem indicar que a dieta proposta causou comprometimento da função hepática bem como da função renal. Os distúrbios do ciclo da ureia são raros

e, comumente, devidos ao metabolismo de resíduos de azoto a partir da decomposição de proteínas (NASDDOGNE et al., 2005). Outra causa importante reside na deficiência parcial ou total da atividade das enzimas no ciclo da ureia (síntese do carbamoyl-fosfato sintetase 1, ornitina transcarbamilase, argininosuccinato sintetase, argininosuccinato liase, arginase ou do co-fator, N-acetilglutamato sintase resultando em o acúmulo de amônia e outros metabólitos (TUCHMAN et al., 2008). Visto que não existem mecanismos exclusivos para a eliminação da amônia, para a sua excreção é necessário a integridade do ciclo da ureia (SUMMAR et al., 2008). Portanto, visto que claramente não havia deficiência enzimática que possa justificar as altas taxas de ureia evidenciadas no estudo atual, estas podem ser atribuídas a lesão no tecido hepático, interferindo no ciclo da ureia ou no mecanismo da excreção renal.

A ingestão da dieta nas concentrações propostas pelo protocolo ocasionaram distúrbio no metabolismo lipídico, caracterizado pelas alterações do colesterol total e triglicerídeos. Os resultados mostraram altas taxas de colesterol total para todos os grupos e menos acentuados para os triglicerídeos (figuras II G e II-H). Lanaspá et al. (2012) descrevem que a molécula de frutose em particular não é responsável pelo aumento das taxas de triglicerídeos, mas o aumento destes determina o acúmulo da gordura no fígado ativando a lipogênese e bloqueando a oxidação da gordura. Um dos principais efeitos tóxicos da frutose pode ser a diminuição da disponibilidade de fosfato inorgânico pelo acúmulo de frutose-1-fosfato, inibindo a ação da enzima glicogênio fosforilase hepática (OBERHAENSLI et al., 1987). Bonafe et al. (2018) referem que o resultado do consumo excessivo de frutose leva ao aumento da concentração de ácidos graxos na circulação assim como depósito de gorduras no tecido adiposo; além da elevação das taxas de VLDL, TG, glicemia e lactato na circulação (TAPPY; LÊ, 2006).

Outros efeitos devidos a ingestão de frutose foram publicados por Seong et al., (2019). No estudo os pesquisadores descrevem que a ingestão materna de frutose em ratos aumentou a pressão arterial na primeira e na segunda geração, comparados ao grupo controle, com aumentos máximos na renina sérica, angiotensina II e aldosterona até a prole da terceira geração. Os resultados também mostraram aumento da expressão do RNA mensageiro dos genes do sistema renina-angiotensina-aldosterona bem como a expressão de renina nos rins na prole da primeira à terceira geração, com exceção do gene vasodilatador. Concluem os autores que a ingestão materna de frutose induz a ativação multigeracional do sistema renina-angiotensina-aldosterona e os resultados permitem inferir que a ingestão deste carboidrato pode induzir epigeneticamente a síndrome cardiometabólica em várias gerações de filhotes.

Monteiro et al. (2012) em estudo com ratos Wistar, após 12 e 24h da administração de frutose intraperitoneal não encontraram alterações nas taxas de triglicerídeos, colesterol, glicose, albumina e proteínas totais. Estes resultados, associados aos obtidos com o estudo atual, podem ser considerados como indicadores de que os efeitos mórbidos da frutose são mais consistentes quando ingeridos cronicamente.

Ramos, Batista e Albuquerque (2017) não encontraram diferença significativa no ganho de peso corporal, mas o percentual de gordura visceral foi maior no grupo de ratos em que a frutose foi dissolvida em solução aquosa na concentração de 20% por oito semanas. A mesma fonte aponta que os dados mais relevantes dizem respeito ao aumento da gordura abdominal e as taxas de triglicérides. Huang et al. (2018) encontrou aumento do tecido adiposo perineal e epididimal em 71,6% e 84,5% em comparação ao grupo controle, respectivamente, indicando que a ingestão de frutose, diretamente aumenta a deposição do tecido adiposo visceral.

Outro achado importante diz respeito às altas taxas de glicemia, em todos os grupos e com significância estatística para os grupos 65, 40 e 20% (figura II-I). Considerando os parâmetros utilizados para diagnóstico de diabetes mellitus em seres humanos, o grupo 20% obteve níveis glicêmicos que caracterizam esta condição clínica. Este pode ser considerado um achado relevante e aponta para os efeitos mórbidos da ingestão deste carboidrato, mesmo em concentrações moderadas. Tappy; Lê (2010) descrevem que a ingestão de frutose, por caminhos distintos pode levar a resistência à ação da insulina, formação de ROS, estresse oxidativo, déficit na sinalização da insulina e resistência a ação desta, justificando, pelo menos em parte, os achados do estudo atual.

Cozma et al. (2012) descrevem que o efeito da frutose no risco cardiometabólico em humanos é controverso e concluem que a troca isocalórica de frutose para outros carboidratos melhora o controle glicêmico a longo prazo, sem afetar a função da insulina em pessoas com diabetes mellitus. Cesaretti, Kohlmann Junior. (2006) utilizaram modelos experimentais, para avaliar de maneira controlada alguns aspectos de obesidade e resistência à insulina, visando buscar informações para melhor compreensão da fisiopatologia e tratamento da obesidade e resistência à insulina. Descrevem que a obesidade experimental e resistência à insulina podem ser devidas a uma resposta deficiente à leptina, secundária a hipoleptinemia e/ou mutações no receptor da leptina, por modificações no receptor de insulina. Segundo a mesma referência outras formas geradoras de resistência à insulina podem ser devidas ao excesso de glicocorticóides, dieta rica em frutose, cafeteria e devido a lesões no hipotálamo. Bermejo-Millo et al. (2018) concluem que ingestão de dieta com altas concentrações de frutose induziu diabetes tipo 2 juntamente com dano oxidativo, degradação seletiva e marcadores de neurodegeneração com formação de placas β -amilóide, em animais alimentados com dieta rica em frutose.

A função hepática foi estimada através das taxas das enzimas AST e ALT e os resultados mostraram aumentos estatisticamente significativos destas enzimas (figuras II-J e II-L, respectivamente). Estes mostram que o protocolo, possivelmente, provocou lesão leve a moderada no tecido hepático. O fígado é responsável pelo metabolismo da frutose obtida pela dieta, após absorção pelo tubo gastroentérico. Para esta finalidade faz-se necessário a ação da enzima sacarase que origina dois monossacarídeos (glicose e frutose), sendo absorvida pelo transportador (GLUT 5) independente da insulina (SMITH et al., 2005). O GLUT5 é expresso

principalmente no fígado (Douard; Ferraris, 2008), possuindo elevada afinidade para a extração da frutose (KIM et al., 2013). Esta função metabólica pode induzir o acúmulo de diacilgliceróis, levando a processos inflamatórios do tecido hepático, ativando a lipogênese e inibindo a sinalização da insulina, o que pode resultar na diminuição da tolerância à insulina (CHAN et al., 2013). Esta configuração metabólica acentua a dislipidemia, acarretando, em algumas situações o acúmulo de gordura hepática, descrita usualmente como esteatose (JOHNSON et al., 2007).

Ojeda et al. (2018), conduziu experimento com ratos expostos à ingestão de frutose durante a gestação e lactação. Encontraram alterações na expressão proteica hepática, alterações o 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 (Mancuso et al., 2006) bem como no mecanismo dos distúrbios relacionados a erros inatos do metabolismo (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 (BRENAN 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 este processo pode estar relacionado a hepatotoxicidade e nefrotoxicidade induzida pela ingestão de frutose.

Neste sentido, foi avaliado a influência da ingestão crônica de frutose sobre parâmetros de estresse oxidativo no tecido hepático e renal de ratas prenhas, a fim de verificar se esta dieta poderia determinar alterações fisiológicas atribuídas a estes órgãos.

Para a avaliação da influência da ingestão de frutose em várias concentrações sobre parâmetros de estresse oxidativo, foi quantificado os níveis de TBARS, Sulfidrilas, SOD, GSH e CAT. Possíveis danos atribuídos ao estresse oxidativo a lipídios podem ser estimados através da quantificação de TBARS. Os marcadores utilizados para avaliar o dano oxidativo a proteínas mais utilizados são os compostos sulfidrílicos. Estes são considerados os maiores e mais frequentes antioxidantes no plasma e as ligações dissulfureto desempenham papel importante na manutenção da estrutura de algumas proteínas (Lopes et al., 2014). A função da GSH reside no metabolismo do peróxido de hidrogênio e desativação de radicais livres. É sintetizada no tecido hepático através de processos catalíticos envolvendo a γ -glutamyl-cisteina-sintetase e glutathione sintetase (HALLIWELL E GUTTERIDGE, 1996). Esta enzima, juntamente com a SOD/CAT,

constituem a primeira linha de defesa antioxidante enzimática para neutralizar Espécies Reativas de Oxigênio (ERO).

Os resultados mostram alterações estatisticamente significativas no tecido hepático para TBARS em todos os grupos, marcadamente mais acentuados para os grupos controle vs 40% e este comparado com 65% e 30%, indicando que a ingestão de frutose determinou aumento da peroxidação lipídica, em proporções diferentes e dependentes da concentração de frutose ingerida (figura III-M). Sulfidrilas mostrou alteração para o grupo 20%, comparada ao controle (figura III-N), mostrando potencial dano a proteínas, neste tecido. Nesse contexto, o aumento dos níveis de TBARS e de sulfidrilas pode ser atribuído a um aumento na geração de ERO em consequência aos altos níveis de frutose. Estas alterações são semelhantes aos resultados descritos por Busserolles et al. (2003). Contudo, neste estudo os animais ingeriram dieta rica em frutose além de outros carboidratos por 6 semanas. Rivera-Ramírez et al. (2011) também descrevem níveis elevados de peroxidação lipídica em camundongos submetidos a uma dieta rica em frutose (60% de frutose), administrado por gavagem. Ozdogan et al. (2012) em estudo com a suplementação de dieta rica em frutose encontraram níveis aumentados malondialdeído indicando peroxidação lipídica.

Oldham; Bowen (1998) defendem a ideia de que a interpretação do conteúdo de [malondialdeído](#) (MDA), definido pelo teste de TBARS, utilizado para estimar níveis de degradação lipídica (peroxidação lipídica), deva ser interpretado com cautela, visto que o MDA não é o único produto final oriundo da decomposição lipídica, tampouco uma substância gerada exclusivamente por meio de peroxidação lipídica. No entanto, mesmo havendo certas controvérsias, este teste vem sendo utilizado em pesquisas, conferindo maior credibilidade aos resultados pela possibilidade da comparação com um grupo controle.

A GSH também mostrou alterações estatisticamente significativas relacionado ao grupo controle vs 40% e 30% (figura III-P); CAT mostrou alterações do grupo controle vs 30% e entre os grupos 65 e 40% vs 30%. A ingestão excessiva de frutose, em modelos animais causou danos em vários tecidos e estes foram associados com o estresse oxidativo (YANG et al., 2011). Contudo, a frutose produziu maior quantidade de ERO comparada com a glicose (SAKAI et al., 2002). Alterações no equilíbrio redox, dislipidemias, diabetes mellitus tipo 2 desencadeadas pela ingestão de frutose foram relatados em vários estudos (BERMEJO-MILLO, et al, 2018; ZENNER et al, 2018).

No presente estudo, o tecido renal mostrou menor vulnerabilidade a ação da frutose em relação a parâmetros de estresse oxidativo, comparado ao tecido hepático. No entanto, neste tecido TBARS e grupamentos sulfidrilas 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 H₂O₂ 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 E DAVIES, 2000). Crescenzo et al. (2018) descrevem 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.

A ingestão de frutose, segundo Johnson et al. (2009) pode levar a hipertrigliceridemia, aumento expressivo de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), ganho de peso, hipertensão arterial sistêmica e intolerância à glicose; para Collison, et al., (2009), ingestão de frutose a longo prazo pode aumentar o estresse oxidativo, prejudicam o sistema antioxidante e aumentam a peroxidação lipídica e segundo; segundo HUANG et al. (2016) a ingestão deste carboidrato pode estar associado ao patogênese da síndrome metabólica, incluindo resistência à insulina, obesidade abdominal, dislipidemia, acúmulo de gordura intra-abdominal, esteatose hepática, inflamação e disfunção endotelial, resultando em diabetes mellitus tipo 2. Zenner et al. 2018) apontaram que a ingestão de frutose e sal levou a hipertensão arterial sistêmica, possivelmente induzida pela geração de espécies reativas de oxigênio e estimulação da secreção de renina, o que poderia contribuir para um aumento das cifras da pressão arterial sistêmica.

Fatores epigenéticos induzidos pelo excesso de consumo de frutose materna levaram a prejuízos na função hipocampal na prole de ratos (YAMAZAKI et al., 2018). Estes resultados foram obtidos com adição de frutose a 20% dissolvina na água e este regime foi mantido durante a gestação e lactação. As conclusões referem que houve prejuízo cognitivo observado na prole de mães alimentadas com frutose no período de 60 dias pós-natal. Estes resultados foram atribuídos a diminuição da neurogênese do hipocampo e que estas alterações epigenéticas podem estar subjacentes à disfunção do hipocampo induzida pela exposição precoce ao consumo excessivo de frutose materna.

Sievenpiper et al. (2014) encontrou 20 ensaios onde foi utilizada alimentação controlada para investigar os efeitos da frutose nos parâmetros cardiometabólicos. As conclusões deste estudo mostraram que, embora a frutose possa aumentar o colesterol total, ácido úrico e os triglicérides pós-prandiais na reposição isocalórica, não parece ser pior do que a glicose em seus efeitos sobre outros aspectos do perfil lipídico, insulina ou marcadores glicêmicos, além da esteatose hepática. Pode também ter vantagens importantes sobre a glicose no tocante ao o peso corporal.

5 CONCLUSÕES

O estudo procurou caracterizar as alterações gestacionais e da prole de ratas Wistar adaptado à aspectos da dieta, mimetizando as principais características do meio no que se refere ao comportamento

alimentar assim como para o desenvolvimento de danos a órgãos-alvo geradores de distúrbios já descritos em estudos científicos como é o caso da diabetes mellitus, dislipidemia e comprometimento da função hepática.

Tomados em conjunto os resultados mostraram que o consumo de frutose prejudicou o crescimento e desenvolvimento, a fertilidade das matrizes, determinando também redução do peso da prole, indicando possível toxicidade para a gestação nas concentrações de frutose adicionadas à ração descritas no protocolo do estudo. A análise também mostrou distúrbios do metabolismo lipídico, glicêmico, da função hepática e renal, além do estresse oxidativo, ficando mais acentuado para os grupos em que a concentração de frutose foi maior. A repercussão deste padrão alimentar mostrou ser importante sobre a fecundidade e que a ingestão de frutose pode ser um importante preditor de risco metabólico, interferindo diretamente em parâmetros gestacionais.

Estes resultados indicam a necessidade de orientações às gestantes e ajustes em padrões industriais no tocante a utilização de frutose em alimentos. Estes dados correlacionados com a gestação humana poderiam levar alguma luz sobre a ocorrência aumentada de recém-nascidos com baixo peso e a necessidade da adoção de medidas para limitar a adição de açúcar em produtos industrializados.

REFERÊNCIAS

- BERMEJO-MILLO JC et al. High-Fructose Consumption Impairs the Redox System and Protein Quality Control in the Brain of Syrian Hamsters: Therapeutic Effects of Melatonin. *Molecular Neurobiology*. v. 55, n.10, p. 7973-7986, 2018.
- BIZEAU ME; PAGLIASSOTTI MJ. Hepatic adaptations to sucrose and fructose. *Metab Clin Exp*. v. 54, n. 9, p. 1189–1201, 2005.
- 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.
- BROOKS, DA.; JONES, H. F; BUTLER, R. N. Intestinal fructose transport and malabsorption in humans. ***American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology***, v.300, n.2, p.202-206, 2010.
- BONAFE, CFS; BISPO JAC; DE JESUS MB. 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.
- BUSSEROLLES J; GUEUX E; ROCK E; DEMIGNE C; MAZUR A; RAYSSIGUIER Y. Oligofructose protects against the hypertriglyceridemic and prooxidative effects of a highfructose diet in rats. *J Nutr*. v.133, n. 6, p.1903-8, 2003.
- CADENAS E; DAVIES KJ. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med*. v. 29, n. 3-4, p. 222-230, 2000.
- COLLISON KS; SALEH SM; BAKHEET RH; AL-RABIAH RK; INGLIS AL; MAKHOUL NJ. Diabetes of the liver: The link between nonalcoholic fatty liver disease and HFCS-55. *Obesity*. v. 17, n. 11, p. 2003–2013, 2009.
- COZMA AI et al. Effect of fructose on glycemic control in diabetes: a systematic review and meta-analysis of controlled feeding trials. *Rev Port Cardiol*. v. 36, n.12, p. 937-941, 2017.
- CHAN SM; SUN RQ; ZENG XY; CHOONG ZH; WANG H; WATT MJ; YE JM. Activation of PPAR α ameliorates hepatic insulin resistance and steatosis in high fructose-fed mice despite increased endoplasmic reticulum stress. *Diabetes*. v. 62, n. 6, p. 2095-2105, 2013.
- CRESCENZO R. 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.
- DOUARD V; FERRARIS RP. Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. v. 295, n. 2, p. E227-237, 2008.
- GARNOL T; ENDLICHER R; KUČERA 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; WHITEMAN M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*. v. 142, n. 2, p. 231-55, 2004.

HUANG DW; CHANG WC; WU JSB; SHIH RW; SHEN SC. Gallic acid ameliorates hyperglycemia and improves hepatic carbohydrate metabolism in rats fed a high-fructose diet. *Nutr. Res.* v. 36, n. 2, p. 150–160, 2016.

HUANG DW. Gallic Acid Alleviates Hypertriglyceridemia and Fat Accumulation via Modulating Glycolysis and Lipolysis Pathways in Perirenal Adipose Tissues of Rats Fed a High-Fructose Diet. *Int. J. Mol. Sci.* v. 15-19, n. 1, E254, 2018.

JAISWAL N; MAURYA CK; ARHA D; AVISETTI DR; PRATHAPAN A; RAJ PS; RAGHU KG; KALIVENDI SV; TAMRAKAR AK. Fructose induces mitochondrial dysfunction and trigger apoptosis in skeletal muscle cells by provoking oxidative stress. *Apoptosis.* v. 20, n. 7, p. 930-947, 2015.

JOHNSON RJ; SEGAL MS; SAUTIN Y; NAKAGAWA T; FEIG DI; KANG DH; GERSCH MS; BENNER S; SÁNCHEZ-LOZADA LG. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* v. 86, n. 4, p. 899-906, 2007.

JOHNSON RJ et al. Hypothesis: Could excessive fructose intake and uric acid cause type 2 diabetes? *Endocr. Rev.* v.30, n. 1, p. 96–116, 2009.

KIM M; LE H; MCINERNEY MJ; BUCKEL W. Identification and characterization of re-citrate synthase in *Syntrophus aciditrophicus*. *J Bacteriol.* v. 195, n. 8, p.1689-1696, 2013.

KOAY et al. Fructose transporters GLUT5 and GLUT2 expression in adults patients with fructose intolerance. **United European Gastroenterology.** v.2, n. 1, p.10-3, 2014.

LOPES A; VILELA TC; TASCETTO L; VUOLO F; PETRONILHO F; DAL-PIZZOL F; STRECK EL; FERREIRA GC; SCHUCK PF. Evaluation of the effects of fructose on oxidative stress and inflammatory parameters in rat brain. *Mol Neurobiol.* v. 50, n. 3, p. 1124-1130, 2014.

LANASPA MA; SANCHEZ-LOZADA LG; CHOI YJ; CICERCHI C; KANBAY M; RONCAL-JIMENEZ CA. et al. Uric acid induces hepatic steatosis by generation of mitochondrial oxidative stress: potential role in fructose-dependent and -independent fatty liver. *J Biol Chem.* v.287, p. 40732–40744, 2012.

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.

MAMIKUTTY N; THENT ZC; SAPRI SR; SAHRUDDIN NN; MOHD YUSOF MR; HAJI SUHAIMI F. The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats. *Biomed Res Int.* v. 91, n. 4, p.1–8, 2014.

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 RH; MEREDITH G; WOODMAN OL; MORRIS MJ; DELBRIDGE LM. 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.

MONTEIRO AA, BIELLA MS; BRISTOT SF; STRECK EL; SCHUCK PF; FERREIRA GC. Caracterização do perfil bioquímico em soro de ratos jovens submetidos a concentrações elevadas de frutose. Criciúma: Revista Inova Saúde, 2012.

NASSOGNE M et al. Urea cycle defects: management and outcome, *J. Inherit. Metab. Dis.* v.28, n. 3, p. 407–414, 2005.

OBERHAENSLI RD; RAJAGOPALAN B; TAYLOR DJ; RADDA GK; COLLINS JE; LEONARD JV; SCHWARZ H; HERSCHKOWITZ N. Study of hereditary fructose intolerance by use of ³¹P magnetic resonance spectroscopy. *Lancet.* v. 24, n. 2, p. 931-4, 1987.

OLDHAM KM; BOWEN PE. Oxidative stress in critical care: is antioxidant supplementation beneficial? *J Am Diet Assoc.* v. 98, n. 9, p. 1001–8, 1998.

OJEDA ML et al. 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.

OZDOĞAN S; KAMAN D; SIMŞEK BÇ. Effects of coenzyme Q10 and α - lipoic acid supplementation in fructose fed rats. *J Clin Biochem Nutr.* v. 50, n. 2, p. 145-51, 2012.

Peña-Oyartzun D et al. Autophagy and oxidative stress in non communicable diseases: A matter of the inflammatory state? *Free Radical Biology and Medicine.* v. 124, n. 20, p. 61–78, 2018.

PINTO A et al. International practices in the dietary management of fructose 1-6 biphosphatase deficiency. v. 12, n. 1, p.13-21, 2018.

RIVERA-RAMÍREZ F; ESCALONA-CARDOSO GN; GARDUÑO-SICILIANO L; GALAVIZ-HERNÁNDEZ C; PANIAGUA-CASTRO N. Antiobesity and hypoglycaemic effects of aqueous extract of *Ibervillea sonorae* in mice fed a high-fat diet with fructose. *J Biomed Biotechnol.* v. 2011, p. 968-84, 2011.

SAKAI M; OIMOMI M; KASUGA M. Experimental studies on the role of fructose in the development of diabetic complications. *Kobe J Med Sci.* v. 48, n. 5-6, p. 125-36, 2002.

SEONG, H.O.; CHO, H.M.; KIM, M.; KIM, I. Maternal High-Fructose Intake Induces Multigenerational Activation of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System. *Hypertension.* v.74, n. 3, p.00-00, 2019.

SIEVENPIPER JL. Fructose vs. glucose and metabolism: do the metabolic differences matter? *Curr Opin Lipidol.*v.25, n.1:8–19, 2014.

SGARAVATTI AM; SGARBI MB; TESTA CG; DURIGON K; PEDERZOLLI CD; PRESTES CG WYSE AT; WANNMACHER CM; WAJNER M; DUTRA-FILHO CS. g- Hydroxybutyric acid induces oxidativestress in cerebral cortex of Young rats. *Neurochem Int.* v. 50, p. 564-70, 2007.

SMITH CM; MARKS A; LIEBERMAN M. Marks' Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach. 2a ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. 238 p, 2005.

SUMMAR ML et al. Diagnosis, symptoms, frequency and mortality of 260 patients with urea cycle disorders from a 21-year, multicentre study of acute hyperammonaemic episodes, *Acta Paediatr.* v.97 n. 10, p. 1420–1425, 2008.

STEPHAN BC; WELLS JC; BRAYNE C; ALBANESE E; SIERVO M. Increased fructose intake as a risk factor for dementia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* v. 65, n. 8, p. 809-814, 2010.

TAIN YL et al. Maternal High Fructose Intake Increases the Vulnerability to Post-Weaning High-Fat Diet-Induced Programmed Hypertension in Male Offspring. *Nutrients*. v. 10, n. 1, p. 56, 2018.

TAPPY L; LÊ K-A. Metabolic Effects of Fructose and the Worldwide Increase in Obesity. *Metabolic Effects of Fructose and the Worldwide Increase in Obesity. Physiol Ver.* v. 90, n. 1, p. 23–46, 2010.

TUCHMAN M et al. Urea Cycle Disorders Consortium of the Rare Diseases Clinical Research Network, Cross-sectional multicenter study of patients with urea cycle disorders in the United States, *Mol. Genet. Metab.* v.94, n. 4, p. 397 – 402, 2008.

WHITE JS. Straight talk about high-fructose corn syrup: what it is and what it ain't. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v.88, n. 6, p.1716-1721, 2008.

ZENNER ZP; GORDISH KL; BEIERWALTES WH. Free radical scavenging reverses fructose-induced salt-sensitive hypertension. *Integrated Blood Pressure Control*. v.11; p. 1–9, 2018.

YAMAZAKI M et al. Excess maternal fructose consumption impairs hippocampal function in offspring via epigenetic modification of BDNF promoter. *The FASEB Journal*. v. 32, n. 5, p. 2549-261, 2018.

YANG K; FENG C; LIP H; BRUCE WR; O'BRIEN PJ. Cytotoxic molecular mechanisms and cytoprotection by enzymic metabolism or autoxidation for glyceraldehyde, hydroxypyruvate and glycolaldehyde. *Chem Biol Interact.* v. 19, n. 1-3, p.315-21, 2011.