

## A EXPOSIÇÃO À FRUTOSE DURANTE A ADOLESCÊNCIA ALTERA PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE RATOS MACHOS ADULTOS

Josana Klagenberg<sup>1</sup>, Gessica Dutra Gonçalves<sup>1</sup>, Henrique Rodrigues Vieira<sup>1</sup>, Maria Natália Chimirri Peres<sup>1</sup>, Paulo Cezar de Freitas Mathias<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Departamento de Biotecnologia, Biologia Celular e Genética / Maringá, PR.

<sup>2</sup> e-mail: pcfmathias@gmail.com

**Área: Ciências Biológicas, Subárea: Biologia Geral.**

**Palavras-chave:** Sistema reprodutor masculino, frutose, Origens Desenvolvimentistas da Saúde e Doença (DOHaD)

### Resumo:

A infertilidade masculina pode ocasionar repercussão social e sofrimento pessoal. Um dos fatores de risco que aumentam as desordens reprodutivas na população é aumento calórico pelo alto consumo de frutose (FR), um açúcar com grande poder adoçante utilizado para aumentar a palatabilidade dos alimentos. Esse alto consumo durante a adolescência pode resultar em danos reprodutivos permanentes ou tornar mais suscetível frente a outros insultos na vida adulta. Sendo assim, o enfoque do presente estudo é avaliar a morfofisiologia testicular e qualidade espermática de ratos Wistar expostos a FR 10% durante a adolescência. Para isso, ratos Wistar púberes, no dia pós-natal (DPN) 30, foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais (N = 30 cada). Sendo o grupo frutose (FR), onde a FR foi diluída em água filtrada na concentração de 10%, e o grupo controle (CT) que recebeu água filtrada, e durante todo o procedimento os animais receberam a ração normolipídica (NF) e foram pesados semanalmente. Ao completarem 120 dias, os animais sofreram eutanásia perante a jejum de 8-12 horas. Os testículos, epidídimo, vesícula seminal e os ductos deferentes foram limpos e pesados para análises como motilidade e morfologia espermática, histologia e contagem espermática. Os resultados à seguir foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média, e submetidos à análise de teste *t-student* e à normalidade Shapiro-Wilk normality test. Foi utilizado como intervalo de confiabilidade valores de  $p < 0,05$ . As análises foram realizadas através do programa GraphPad Prism® versão 6.01.

### Introdução

Atualmente, a população mundial tem sofrido com a redução da taxa de fertilidade, que afeta de 10 a 15% dos casais, sendo que 40% destes são por causas masculinas (FERNANDEZ, 2011). Um dos fatores que influenciará posteriormente a vida adulta é a puberdade, período extremamente importante, pois, marca a transição entre a infância e a idade adulta, devido à secreção dos esteroides sexuais, o aparecimento de caracteres sexuais secundários, as mudanças

comportamentais, dentre outros. Portanto, perturbações neste período podem induzir danos corporais permanentes ao afetarem a secreção de alguns hormônios sexuais (TAPPY, 2010).

Em mamíferos, a escolha por comidas com sabor adocicado é comum principalmente em adolescentes, entre de 12 – 19 anos nos Estados Unidos da América, chegando a representar 17% de todo consumo calórico diário da fase (HSU et al., 2015). Dentre compostos usados nas indústrias para esta palatabilidade doce está a frutose, que pode gerar disfunções endócrinas reprodutivas e até infertilidade.

Em roedores, o consumo de frutose a 11% na adolescência leva a danos na função do hipocampo na vida adulta que podem influenciar no perfil inflamatório sistêmico e aumento da insulina plasmática (HSU et al., 2015). Além do mais, o consumo de frutose a 10% durante a gestação pode resultar em um aumento da resistência à insulina e marcadores de estresse oxidativo (RODRIGUEZ et al., 2015). (SHIBATA, 2013) ainda observaram que em ratos Wistar submetidos a várias concentrações de frutose, glicose e caseína, o grupo com o tratamento de frutose a 70% + caseína 20% tiveram um prejuízo bem maior em relação ao ganho de peso testicular quando comparado a dieta controle, além disso, o trabalho ainda mostra que quanto menor a quantidade de proteína ingerida na dieta maior o dano reprodutivo. Preocupantemente, a literatura ainda mostra que o efeito da obesidade paternal relacionada a frutose, pode prejudicar a saúde de até duas gerações, sugerindo assim danos reprodutivos persistentes nesses machos.

Frente ao consumo exacerbado da frutose, não se há medidas nem limitações ao seu uso. Segundo a literatura há danos tanto endócrinos, quanto em outros diferentes órgãos, incluindo alterações reprodutivas. Porém, falta estudos que explorem a morfofisiologia do testículo frente à ingestão de frutose na adolescência, ou mesmo se esta exposição durante a puberdade pode ocasionar uma fragilidade reprodutiva na vida adulta, por isso a necessidade do presente estudo.

## Materiais e métodos

Ratos Wistar, no dia pós-natal (DNP) 30, foram obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá - UEM, e trazidos para o Biotério Setorial do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular. Esses permaneceram em adaptação durante 5 dias e ao completarem 30 dias o tratamento foi iniciado. Os animais ficaram sob condições de temperatura ( $23 \pm 2$  °C) e fotoperíodo (07h00min às 19h00min, ciclo de claro) controlados, com água e ração à vontade. Todos os procedimentos seguiram as normas do Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Para isso, os animais foram divididos em dois grupos, grupo W-NF que recebeu água filtrada para beber e o grupo FR-NF que recebeu solução de frutose 10% diluída em água durante o período de 30 – 60 dias de idade, ambos grupos receberam ração normolipídica (NF) ao longo de todo o protocolo experimental.

Após os ratos completarem 120 dias os animais sofreram eutanásia, os espermatozoides do ducto direito foram coletados, sua secreção foi usada para motilidade, sendo classificados em móveis e imóveis, enquanto o esquerdo foi utilizado para morfologia espermática, sendo classificadas desordens espermáticas.

Também foi inferido o peso corpóreo, o peso testicular, epididimário e da vesícula cheia e vesícula vazia. Os testículos esquerdos foram coletados para histologia, e o lado direito para a contagem espermática.

## Resultados e Discussão

No peso absoluto dos órgãos reprodutores de ratos adultos submetidos à ingestão de frutose a 10% durante a adolescência, Tabela 1, foi observado redução significativa no ducto deferente no grupo FR, bem como, também foi mostrado redução no peso da vesícula seminal cheia ( $p < 0,05$  m ambos, comparado ao grupo CT). A vesícula seminal produz o líquido seminal, que apresenta alta porcentagem de frutose na composição, o qual essa redução pode ter sido influenciada pelo tratamento. Vale ressaltar que o peso corporal desses animais não apresentou diferença estatística significativa para o peso inicial (CT =  $87,75 \pm 2,64$ ; FR =  $88,05 \pm 2,14$ ) e nem para o peso final (CT =  $422,2 \pm 15,73$ ; FR =  $397,1 \pm 11,04$ ).

**Tabela 1.** Peso absoluto dos órgãos reprodutores de ratos machos com ingestão de frutose a 10% (FR) na adolescência e controle (CT), aos 120 dias.

	CT	FR	p
Peso Testículo Absoluto (g)	$1,54 \pm 0,03$	$1,51 \pm 0,05$	ns
Peso Epidídimo Absoluto (mg)	$548 \pm 12$	$524 \pm 12$	ns
Peso Ducto Deferente Absoluto (mg)	$93 \pm 4$	$80 \pm 3$	*
Peso Vesícula seminal Cheia Absoluto (mg)	$95 \pm 1,3$	$82 \pm 0,7$	*
Peso Vesícula seminal Vazia Absoluto (mg)	$53 \pm 0,8$	$52 \pm 0,5$	ns

Os resultados estão apresentados por média  $\pm$  erro padrão da média (n= 10 animais por grupo), teste *t de student*, \* $p < 0,05$ .

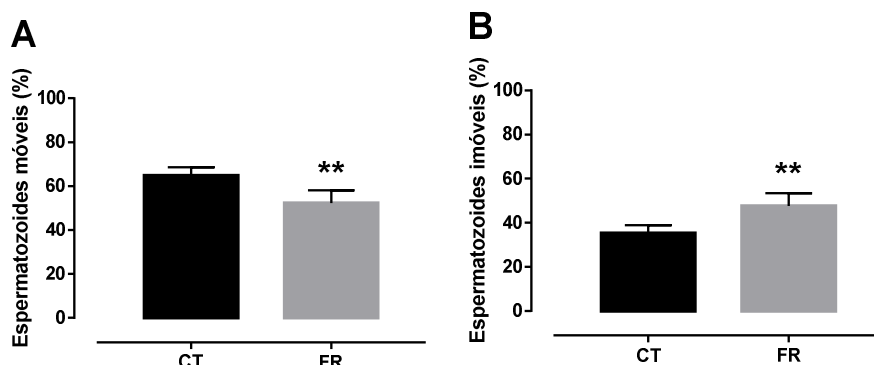
Já em relação ao número de espermatozoides no testículo e produção diária espermática não foi observado diferença estatisticamente significativa, assim como em nenhuma fase da espermatogênese relacionada a dinâmica espermática. Na histopatologia testicular houve diferença estatística significativa em relação aos túbulos seminíferos normais e anormais ( $p < 0,05$  m ambos, comparado ao grupo CT), tabela 2. Isso pode indicar um comprometimento das funções celulares no grupo FR, por exemplo a secreção de hormônios como a testosterona (TAPPY, 2010).

**Tabela 2.** Histopatologia testicular de ratos machos adultos com ingestão de frutose a 10% (FR) na adolescência.

	CT	FR	p
Túbulos seminíferos normais	$91,8 \pm 2,40$	$80,8 \pm 3,90$	*
Túbulos seminíferos anormal	$8,2 \pm 2,40$	$19,3 \pm 3,90$	*

Os resultados estão apresentados por média  $\pm$  erro padrão da média (n= 10 animais por grupo), teste *t de student*, \* $p < 0,05$ .

As alterações foram significativas ( $p < 0,05$ ) na motilidade espermática nos grupos FR, figura 1. Dados da literatura apresentam que o aumento da concentração de frutose leva ao aumento da quantidade de espermatozoides imóveis acompanhado de maior ativação dos processos inflamatórios no organismo (Hsu et al., 2015).



**Figura 1** – Motilidade espermática de ratos machos com ingestão de frutose a 10% (FR) na adolescência e controle (CT), aos 120 dias.

## Conclusões

A ingestão de 10% de frutose na adolescência em ratos Wistar culminou em alterações nos órgãos reprodutivos e na qualidade espermática em ratos adultos. Contudo, experimentos que analisem se essa programação predispõe a disfunções mais graves na vida adulta são necessários.

## Agradecimentos

A UEM pela infraestrutura e a CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

## Referências

FERNANDEZ, C. D. B. **Função reprodutiva em ratos machos obesos por consumo de dieta hipercalórica**. 2011. 87 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural). Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. São Paulo, 2011.

HSU, T. M. Effects of sucrose and high fructose corn syrup consumption on spatial memory function and hippocampal neuroinflammation in adolescent rats, **Hippocampus**, v. 25, n. 2, p. 227–239, 2015.

RODRIGUEZ, L. Maternal fructose intake induces insulin resistance and oxidative stress in male, but not female, offspring. **J Nutr Metab**, v. 2015, p. 158091, 2015.

SHIBATA, K.; FUKUWATARI, T. High d(+)-fructose diet adversely affects testicular weight gain in weaning rats horizontal line protection by moderate d(+)-glucose diet. **Nutr Metab Insights**, v. 6, p. 29-34, 2013.

TAPPY, L.; LE, K. A. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. **Physiol Rev**, v. 90, n. 1, p. 23-46, Jan 2010.