



EFEITOS DO CONSUMO DE FRUTOSE SOBRE O METABOLISMO DE RATOS ADULTOS TRATADOS COM RITALINA[®] NA ADOLESCÊNCIA

Bruna Fernanda Krull dos Santos¹, Marcel Pereira Rangel², Ananda Malta³

¹Acadêmica do Curso de Medicina, Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR, Maringá-PR. Bolsista PIBIC/UniCesumar.

²Orientador, Prof. Dr. Do Curso de Medicina, UNICESUMAR, Maringá-PR.

³Co-orientadora, Mestre e Doutora em Ciências Biológicas / Biologia Celular e Molecular, Universidade Estadual de Maringá (UEM).

RESUMO: O medicamento Ritalina[®], cujo princípio ativo é o Metilfenidato, é muito utilizado no tratamento do Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade (TDAH). Sabe-se que o tratamento com o psicoestimulante Ritalina[®] em ratos Wistar durante a adolescência programa os animais para alterações metabólicas na vida adulta. Observou-se que esses animais possuem elevado peso corporal, maiores estoques de gordura, dislipidemia e problemas na homeostase glicêmica. Considerando que a presença da frutose em alimentos industrializados teve aumento de 16% entre 1986 e 2007 e que seu consumo está associado com doenças cardiometabólicas, hipotetizamos que a ingestão de uma dieta rica em frutose na vida adulta, pode exacerbar os efeitos do medicamento. Para isso, ratos Wistar receberam Ritalina[®] na dose de 1 mg/kg de peso corporal a partir do desmame (aos 21 dias) até 51 dias de vida (grupo RIT); enquanto os animais controles receberam Salina 0.9% no mesmo volume (grupo SAL). Aos 81 dias, parte dos animais de ambos os grupos passarão a receber D-frutose (F) diluída em água na concentração 10%. Quando completados 110 dias de vida os animais foram submetidos ao teste de tolerância à glicose intravenoso. Posteriormente, os animais foram eutanasiados para a retirada dos principais estoques de gordura corporal, para pesagem do fígado além da coleta de sangue total para dosagem de perfil lipídico e glicose em jejum.

PALAVRAS-CHAVE: Adolescência, Frutose; Programação Metabólica, Ritalina[®].

1 INTRODUÇÃO

Desde 1968, quando seu uso foi aprovado nos Estados Unidos, o psicoestimulante Metilfenidato (MPH) tem sido cada vez mais utilizado para o tratamento do Transtorno de Déficit de Atenção com Hiperatividade (TDAH) em crianças e adultos (AGAY et al., 2010). Este transtorno psiquiátrico está associado a distúrbios no sistema catecolaminérgico cerebral (SRIPADA; KESSLER; JONIDES, 2014). O MPH age elevando os níveis extracelulares de catecolaminas, especificamente de dopamina e noradrenalina no cérebro, bloqueando seus respectivos transportadores (VOLKOW et al., 2004; AGAY et al., 2010).

Relatos de caso mostram que a maior disponibilidade de dopamina e catecolaminas na fenda sináptica, em decorrência do uso do MPH em indivíduos jovens, promove uma redução na ingestão alimentar, no peso corpóreo e um maior gasto energético durante o tratamento (ELFERS; ROTH, 2011; BENARD et al., 2014). Contudo, observou-se que a interrupção do uso do medicamento pode promover um efeito rebote, o qual altera o padrão alimentar e peso corporal dos pacientes e dessa forma apresentam maior ganho de peso e consumo de alimentos.

Em todo o mundo, o TDAH é uma das principais desordens comportamentais observadas na infância, encontrada em cerca de 3% a 5% da população escolar, mais frequentemente em meninos (BUSARDÒ et al., 2016). A prevalência do TDAH sobe para 17% quando considerados os casos diagnosticados sem critérios apropriados (BUSARDÒ et al., 2016). Nos últimos dez anos observou-se um aumento de 41% na taxa de diagnósticos desse transtorno, com maior aumento entre meninos de 14 a 17 anos (JABOINSKI et al., 2015).

Estudos epidemiológicos e experimentais relacionam a influência de determinados fatores ambientais na gestação, lactação e infância, com alterações metabólicas e o surgimento de doenças



crônicas na vida adulta (SILVEIRA et al., 2007). Esta correlação deu origem ao conceito DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) ou programação metabólica. A adolescência também é considerada uma fase crítica do desenvolvimento (OLIVEIRA et al., 2012), pois conexões neuronais estão sendo formadas no cérebro do indivíduo (MALTA et al., 2014). O aumento da concentração de hormônios sexuais circulante pode causar modificações estruturais e funcionais em diferentes estruturas cerebrais, como no hipotálamo e no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (OLIVEIRA et al., 2012). Dessa forma, insultos na fase de puberdade podem modular permanentemente o metabolismo levando a disfunções na vida adulta (MALTA et al., 2014).

A síndrome metabólica, presente em 20% a 25% da população mundial, é caracterizada principalmente pela obesidade abdominal, dislipidemia, hiperglicemia e hipertensão, desencadeando doenças cardiovasculares (MAMIKUTTY et al., 2014). Considerando a dieta rica em carboidratos e gorduras e o sedentarismo como agravantes (MAMIKUTTY et al., 2014), notou-se na presente década o consumo exacerbado de doces, os quais são compostos por mais de 40% de frutose (CHARREZ; QIAO; HEBBARD, 2015), favorecendo na União Européia, por exemplo, a substituição do dissacarídeo sacarose pelo monossacarídeo frutose nos alimentos processados e refrigerantes, cujo índice glicêmico é mais elevado (LUSTIG, 2013).

A frutose é um carboidrato simples, da classe das hexoses, sua fórmula química $C_6H_{12}O_6$, semelhante à glicose (KANIA, 2016). Segundo o Instituto de Coração, Pulmão e Sangue, com o aumento no consumo de frutose entre adultos, pode-se observar alterações no perfil lipídico do plasma, como baixos níveis de colesterol-HDL e altos índices de triglicerídeos, podendo ser indicativo para doenças cardíacas e doenças vasculares cerebrais (KANIA, 2016). Outro agravante é o desenvolvimento da doença hepática gordurosa não-alcoólica. Além disso, suporta a lipogênese pela resistência à insulina e promove a formação de ácidos graxos (SOFTIC; COHEN; KAHN, 2016).

De acordo com estudo realizado no Laboratório de Biologia Celular da Secreção/UEM (dados não publicados), animais tratados com Ritalina[®] apenas durante a adolescência apresentam disfunções metabólicas na vida adulta, como aumento de peso corporal, maiores estoques de gordura corporal, dislipidemia e problemas na homeostase glicêmica. Com isso, hipotetizamos que a ingestão de frutose na vida adulta pode potencializar os efeitos já previstos pelo tratamento com o medicamento na adolescência em ratos Wistar.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Ratos Wistar machos e fêmeas foram obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e alojados no Biotério Setorial do Laboratório de Biologia Celular da Secreção (LBCS). Após cinco dias de adaptação, os animais foram colocados para cruzar na proporção de um macho para três fêmeas. Ao nascimento, as ninhadas foram padronizadas para nove filhotes por mãe. Aos 21 dias de vida, os animais foram desmamados, mantidos com três machos por caixa e divididos em dois grupos experimentais: animais que receberam Ritalina[®] (RIT) e animais que receberam Salina 0.9% (SAL). O tratamento consistiu na administração via gavagem do medicamento Ritalina[®] na dose 1 mg/kg/dia (HALEEM; INAM; HALEEM, 2015) para animais machos entre 21 e 51 dias de vida. O grupo SAL recebeu gavagem de salina 0.9% no mesmo volume. Do 51^o ao 80^o dia, ambos os grupos receberam dieta comercial (Nuvital[®], Curitiba/PR, Brasil) e água *ad libitum*. Entre o 81^o e o 110^o dia, parte dos animais dos grupos SAL e RIT continuaram recebendo água normal ou D-frutose (Fru) diluída em água (10%). As garrafas foram cobertas com papel alumínio para evitar a fermentação e a solução foi trocada a cada dois dias. Dessa forma, os quatro grupos experimentais obtidos foram: Sal-Água, Sal-Fru, Rit-Água e Rit-Fru.

Aos 110 dias de vida realizou-se os procedimentos experimentais (Avaliação de parâmetros biométricos, dosagens bioquímicas e teste de tolerância à glicose) e análise estatística dos dados.

Os animais ficaram sob condições controladas de temperatura ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) e fotoperíodo (12h claro, 12h escuro), com água e ração *ad libitum*. Os experimentos foram realizados de acordo com as



normas do Comitê de Ética para o uso e experimentação animal da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM: N° 8638040917).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Entre o 21° e o 80° dia, foi comparado o ganho de peso corporal em gramas e a quantidade de ração e água ingerida. Não observamos diferença estatística nesses parâmetros durante este período (dados não apresentados).

Nota-se que o peso corporal (Figura 1A) não apresentou diferença estatística entre os quatro subgrupos, contudo observamos que os animais que ingeriram frutose na vida adulta apresentaram uma redução no consumo alimentar (Figura 1B) em relação aos seus controles. Além disso, a Figura 2 mostra um efeito da frutose ($p=0.053$) aumentando a ingestão calórica diária total dos animais que ingeriram frutose na vida adulta.

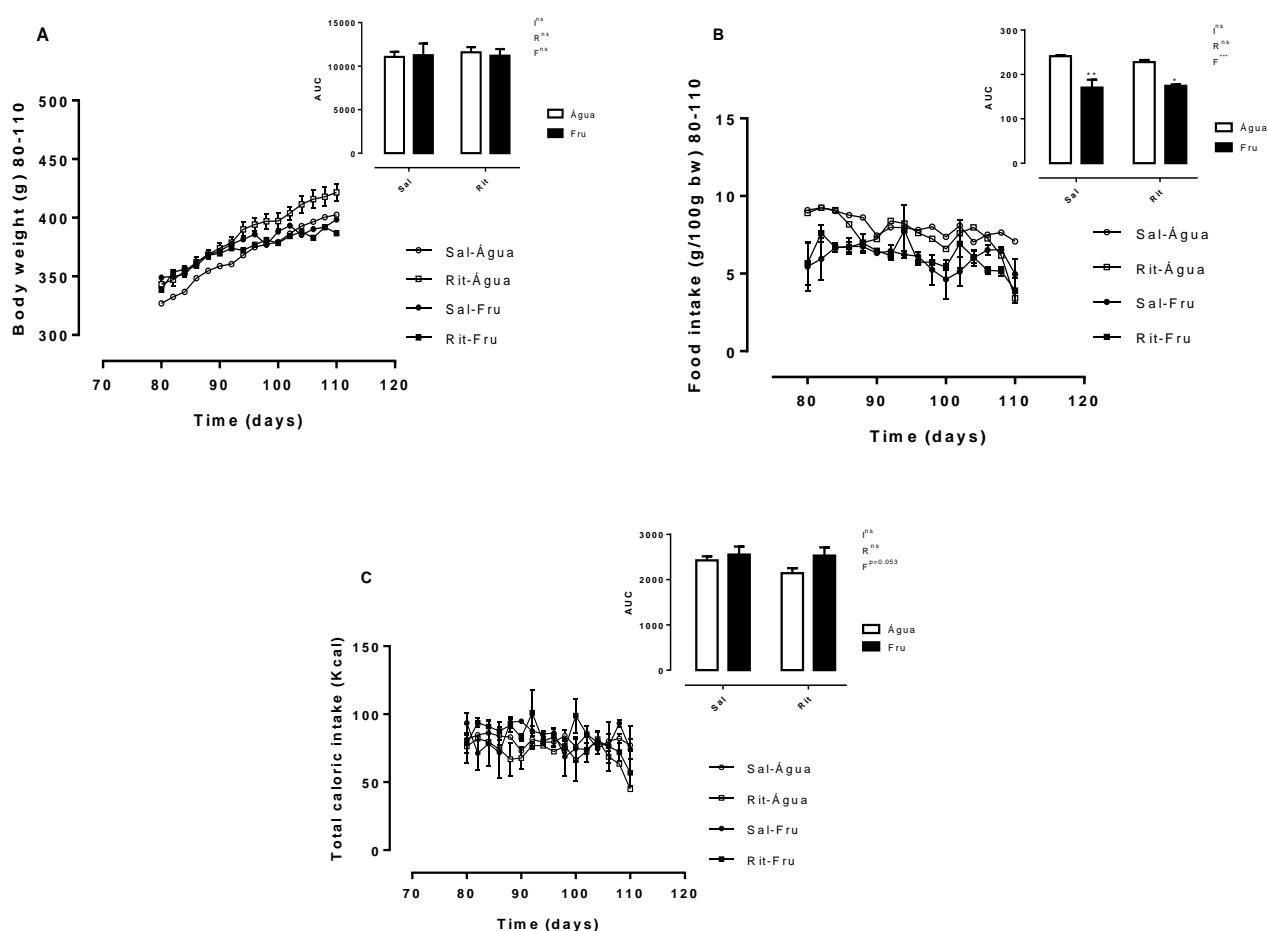


Figura 1 – (A) Peso corporal (B) Consumo alimentar (C) Consumo total de calorias dos 80 aos 110 dias de vida. Os dados foram expressos conforme média±erro padrão da média; n=9 animais por grupo, de 3 ninhadas diferentes.

O gráfico em barras de cada figura representa a área sob a curva (ASC). Os dados foram analisados com teste ANOVA two-way, com pós teste de Tukey, considerando-se os fatores: (R) Ritalina; (F) Frutose e (I) interação entre os fatores R e F. * $P<0.05$ e ** $P<0.01$ para análise entre os grupos Água e Fru do mesmo grupo. Sal-Água: salina controle; Rit-Água: ritalina controle; Sal-Fru: salina frutose; Rit-Fru: ritalina frutose.

A literatura mostra que ratos adultos machos e fêmeas que consumiram frutose 10% por 6 semanas apresentaram aumento no consumo total de Kcal/dia (RATTANAVICHIT, CHUKIJRUNGROAT; SAENGSIRISUWAN, 2016). Corroborando essa ideia, experimentos com consumo de frutose 20% e 25% durante 8 semanas em ratos Wistar adultos mostraram diminuição da ingestão de ração, porém, há aumento no consumo total em Kcal/dia (MAMIKUTTY et al, 2014). Há também camundongos adultos



que ingeriram frutose 15% na água por 73 dias que não mostraram alteração no consumo total de calorias, pois reduziram a ingestão de ração (JURGENS et al, 2005).

Tabela 1- Efeitos da ingestão de frutose na vida adulta sobre os parâmetros biométricos e bioquímicos de animais tratados com Ritalina na adolescência.

Parâmetros	Sal-Água	Sal-Fru	Rit-Água	Rit-Fru	Fatores		
					R	F	I
Peso final (g)	381.88±6.9	388.07±20.2	413.85±7	383.11±7.1	ns	ns	ns
Peso do fígado (g/100g PC)	3.95±0.08	3.96±0.07	3.79±0.12	3.97±0.06	ns	ns	ns
Gordura retroperitoneal (g)	1.20±0.08	1.54±0.14	1.55±0.09	1.55±0.08	ns	ns	ns
Glicemia de jejum (mg/dl)	78.5±4.4	65±5.3	80.16±4.5	71.33±7.1	ns	ns	ns
Colesterol total (mg/dL)	61.32±3.6	61.28±3.6	76.99±5.03*	65.76±4.08	*	ns	ns
Triglicerídeos (mg/dL)	56.88±2.3	91±11.08**	55.79±3.88	85.17±12.7*	ns	****	ns

Valores expressos como média ± EPM obtidos de 9 animais de cada grupo experimental (3 ninhadas diferentes). Os dados foram analisados com teste ANOVA two-way, com pós teste de Tukey, considerando-se os fatores: (R) Ritalina; (F) Frutose e (I) interação entre os fatores R e F. *P<0.05 e ****P<0.0001 para análise dos fatores. *P<0.05 e ** P<0.01 para análise entre os grupos Água e Fru do mesmo grupo e #P<0.05 para análise entre os grupos Sal e Rit nas mesmas condições. Sal-Água: salina controle; Rit-Água: ritalina controle; Sal-Fru: salina frutose; Rit-Fru: ritalina frutose.



Figura 2 – (A) Gordura periepididimal (B) Gordura mesentérica aos 110 dias de vida. Os dados foram expressos conforme média±erro padrão da média; n=9 animais por grupo, de 3 ninhadas diferentes. O gráfico em barras de cada figura representa a área sob a curva (ASC). Os dados foram analisados com teste ANOVA two-way, com pós teste de Tukey, considerando-se os fatores: (R) Ritalina; (F) Frutose e (I) interação entre os fatores R e F. *P<0.05 e ** P<0.01 para análise entre os grupos Água e Fru do mesmo grupo. #P<0.05 para análise entre os grupos Sal e Rit nas mesmas condições. Sal-Água: salina controle; Rit-Água: ritalina controle; Sal-Fru: salina frutose; Rit-Fru: ritalina frutose.

A Tabela 1 indica que não houve diferença estatística no peso corpóreo final e na gordura retroperitoneal aos 110 dias. Animais que receberam frutose 10% por 4 semanas apresentaram aumento nos estoques de gordura periepididimal e mesentérica (Figura 2A e 2B). A literatura apresenta que fêmeas adultas apresentaram maior estoque de gordura visceral diante do consumo de frutose 10% por 6 semanas (RATTANAVICHIT, CHUKIJRUNGROAT, SAENGSIRISUWAN, 2016) e camundongos adultos que ingeriram frutose 15% por 73 dias apresentaram aumento na % de gordura corporal (JURGENS et al, 2005).

Contudo, outros artigos indicam que camundongos que receberam frutose 10% por 16 semanas não apresentaram aumento no índice de adiposidade (DELLA VEDOVA et al, 2016). Em nosso trabalho, animais tratados com Ritalina® apresentaram aumento no estoque de gordura periepididimal. A literatura mostra que durante o tratamento crônico com Metilfenidato em crianças há uma diminuição do conteúdo total de gorduras (POULTON et al, 2012). O efeito da pausa no tratamento sobre o conteúdo de gordura corporal não é bem conhecido.

Baseado no Tabela 1, notamos que não houve diferença no peso do fígado entre os grupos. Observa-se que o grupo Rit-Água apresentou aumento no colesterol total em relação ao seu controle e ambos os grupos que ingeriram frutose apresentaram aumento nos triglicerídeos (Tabela 1).

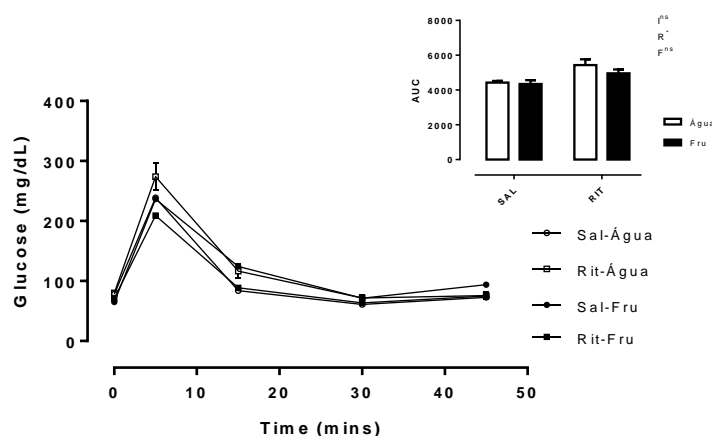


Figura 3 - Glicemia em jejum. Os dados foram expressos conforme média ± erro padrão da média; n=9 animais por grupo, de 3 ninhadas diferentes. O gráfico em barras de cada figura representa a área sob a curva (ASC). Os dados foram analisados com teste ANOVA two-way, com pós teste de Tukey, considerando-se os fatores: (R) Ritalina; (F) Frutose e (I) interação entre os fatores R e F. *P<0.05 e ** P<0.01 para análise entre os grupos Água e Fru do mesmo grupo. Sal-Água: salina controle; Rit-Água: ritalina controle; Sal-Fru: salina frutose; Rit-Fru: ritalina frutose.

Não observamos diferença estatística entre os grupos na glicemia em jejum (Tabela 1), no entanto, nosso trabalho mostra um efeito do tratamento com Ritalina® na adolescência na área sob a curva (ASC) do teste de tolerância à glicose, indicando alterações na homeostase glicêmica; contudo o grupo Sal-Fru não apresentou modificações na homeostase glicêmica.

A literatura indica que ratos adultos que consumiram ração rica em frutose (60%) por 13 semanas apresentaram aumento da glicemia de jejum (CASTRO et al, 2013); assim como o consumo de frutose 20% e 25% durante 8 semanas provoca aumento na glicose plasmática em ratos Wistar adultos (MAMIKUTTY et al, 2014). Entretanto, camundongos adultos que ingeriram frutose 15% por 73 dias não apresentaram intolerância à glicose (ivGTT), semelhantemente a dose utilizada e ao resultado encontrado em nosso trabalho (JURGENS et al, 2005).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ingestão de D-frutose à 10% na vida adulta não potencializou os efeitos metabólicos previstos pelo uso do medicamento Ritalina®, na adolescência, em ratos Wistar.

REFERÊNCIAS

- AGAY, Nirit et al. Non-specific effects of methylphenidate (Ritalin) on cognitive ability and decision-making of ADHD and healthy adults. **Psychopharmacology**, [s.l.], v. 210, n. 4, p.511-519, 28 abr. 2010. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-010-1853-4>.
- BUSARDÒ, Francesco Paolo et al. From Clinical Application to Cognitive Enhancement: The Example of Methylphenidate. **Current Neuropharmacology**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.17-27, 22 jan. 2016. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1570159x13666150407225902>.
- HALEEM, Darakhshan Jabeen; INAM, Qurrat-ul-aen; HALEEM, Muhammad Abdul. Effects of clinically relevant doses of methylphenidate on spatial memory, behavioral sensitization and open field habituation: A time related study. **Behavioural Brain Research**, [s.l.], v. 281, p.208-214, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2014.12.031>.



KANIA, Lauren Christina. The Relationship Between Fructose and the Metabolic Syndrome Risk Factors. **Southern Illinois University Carbondale Opensiuc**, Carbondale, v. 1, n. 1, p.2-29, ago. 2016. Disponível em: <http://opensiuc.lib.siu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1961&context=gs_rp>. Acesso em: 25 ago. 2017.

LUSTIG, Robert. **Fructose: the poison index**. 2013. Disponível em: <<https://www.theguardian.com/commentisfree/2013/oct/21/fructose-poison-sugar-industry-pseudoscience>>. Acesso em: 25 ago. 2017

MALTA, A. et al. Low-protein diet in adult male rats has long-term effects on metabolism. **Journal Of Endocrinology**, [s.l.], v. 221, n. 2, p.285-295, 5 mar. 2014. BioScientifica. <http://dx.doi.org/10.1530/joe-13-0473>.

MAMIKUTTY, Norshalizah et al. The Establishment of Metabolic Syndrome Model by Induction of Fructose Drinking Water in Male Wistar Rats. **Biomed Research International**, [s.l.], v. 2014, p.1-8, 2014. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/263897>

RATTANAVICHIT, Yupaporn; CHUKJRUNGROAT, Natsasi; SAENGSRISUWAN, Vitoon. Sex differences in the metabolic dysfunction and insulin resistance of skeletal muscle glucose transport following high fructose ingestion. **American Journal Of Physiology-regulatory, Integrative And Comparative Physiology**, [s.l.], v. 311, n. 6, p.1200-1212, dez. 2016. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpregu.00230.2016>

TRINDER, P. Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. **Journal of clinical pathology**, v. 22, n. 2, p. 158-161, 1969.

VOLKOW, Nora D. et al. Evidence That Methylphenidate Enhances the Saliency of a Mathematical Task by Increasing Dopamine in the Human Brain. **American Journal Of Psychiatry**, [s.l.], v. 161, n. 7, p.1173-1180, jul. 2004. American Psychiatric Publishing. <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.161.7.1173>