

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA**

ANA MARIA DOS SANTOS RODRIGUES

**MARCADORES METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS
APÓS INGESTÃO DE SOBRECARGA DE FRUTOSE:
ESTUDO CRUZADO E RANDOMIZADO**

Belo Horizonte/ MG

2018

ANA MARIA DOS SANTOS RODRIGUES

**MARCADORES METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS
APÓS INGESTÃO DE SOBRECARGA DE FRUTOSE:
ESTUDO CRUZADO E RANDOMIZADO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Adaliene Versiani Matos Ferreira (Escola de Enfermagem / UFMG).

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Isabel Toulson Davisson Correia (Faculdade de Medicina da UFMG).

Belo Horizonte/ MG

2018

R696m Rodrigues, Ana Maria dos Santos.
Marcadores metabólicos e inflamatórios após ingestão de sobrecarga de frutose: estudo cruzado e randomizado / Ana Maria dos Santos Rodrigues. – 2018.

76 f.

Orientadora: Adaliene Versiani Matos Ferreira.

Coorientadora: Maria Isabel Toulson Davisson Correia.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

1. Frutose – Teses. 2. Inflamação pós-prandial - Teses. 3. Inflamação – Teses. 4. Glicemia – Medição – Teses. 5. Metabolismo – Teses. I. Ferreira, Adaliene Versiani Matos. II. Correia, Maria Isabel Toulson Davisson. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 612.3



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PPGCA

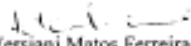
FOLHA DE APROVAÇÃO

Marcadores metabólicos e inflamatórios após ingestão de sobrecargas de frutose: estudo cruzado e randomizado


ANA MARIA DOS SANTOS RODRIGUES

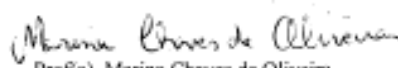
Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.


Aprovada em 06 de junho de 2018, pela banca constituída pelos membros:


Prof(a). Adaliene Versiani Matos Ferreira (Orientadora)
Escola de Enfermagem-UFMG


Prof(a). Helen Hermana Minda Hermsdorff
UFV


Prof(a). Lucilene Rezende Anastácio
Faculdade de Farmácia - UFMG


Prof(a). Marina Chaves de Oliveira
Escola de Enfermagem-UFMG


Prof(a). Laura Cristina Jardim Peto Rimenta
UFLA

Belo Horizonte, 6 de junho de 2018.

Dedico este trabalho ao meu marido e filhos amados:

Sem vocês, minha vida não seria doce, alegre e feliz!!

AGRADECIMENTOS

A Deus que em tudo está presente e a Nossa Senhora, companheira sempre!

Aos meus pais pelo amor, palavras carinhosas e silêncio nos momentos necessários!
Aos meus irmãos, cunhados e sobrinhos que respeitaram as ausências e aflições quanto estudar era necessário. Amo vocês demais!!

À minha orientadora Profa. Doutora Adaliene Versiani Matos Ferreira e coorientadora Profa. Dra. Maria Isabel Toulson Davisson Correia, pelo exemplo de ética e compromisso com a formação dos alunos, por me fazerem acreditar que tudo é possível, pelo apoio nesta longa trajetória, pelas oportunidades de crescimento pessoal e profissional, pelos momentos informais e conversas simples.

À professora Luana Caroline dos Santos por me mostrar a luz quando os números pouco diziam, por estar presente e disponível para ouvir as aflições de uma pesquisadora iniciante, sempre com um sorriso meigo e carinhoso, e pela amizade que surgiu ao longo desta trajetória.

À professora Simone de Vasconcelos Generoso, pelo ombro amigo e por não me deixar desistir de sonhar, mesmo quando parecia impossível!

À professora Ann Kristine Jansen, pelos bons momentos compartilhados e pelas parcerias que se tornaram grandes oportunidades de crescimento profissional.

Ao grupo Imunometabolismo, pela troca constante de conhecimentos, experiências e experimentos. Às humanas, Laís Bhering Martins, Débora Fernandes Rodrigues, Gabriela Barbosa Pires Fagundes e Nayara Mussi Monteze, que aceitaram o desafio de realizar ensaios clínicos e mostraram que juntas somos mais fortes!! Laís, querida amiga, muito obrigada!! À Marina Chaves de Oliveira e Ana Letícia M. Silveira pela paciência, ensinamentos e ajudas, mesmo que de madrugada. À Kátia Anunciação Costa, Letícia Cordeiro, Amanda Carla C. de Oliveira, Jaqueline Pereira Lanna, Débora Romualdo Lacerda, Marina Campos Zicker por sempre estarem presente!

Ao grupo de pesquisa de Nutrição da professora Maria Isabel Toulson Davisson Correia, por me permitirem acompanhar os trabalhos realizados, pela acolhida carinhosa, pela paciência com os palpites e sugestões nos momentos das discussões. À Álida Rosária Silva Ferreira, por ceder seu tempo precioso para tirar as dúvidas infinitas de uma aspirante estudante de estatística que sempre acha que não sabe fazer nada!!

Aos ex-alunos de iniciação científica e de projetos de extensão por me permitirem aprimorar os conhecimentos e as práticas de ensino. Um abraço especial para Matheus Henrique Alves Amaral, Taciana Maia, Jenneffer Rayane Braga Tibães e Josiana Sabino, que se tornaram colegas de profissão e parceiros para a vida toda!!!

À Érica Leandro Marciano Vieira por dividir comigo seus conhecimentos com simplicidade e simpatia. À Karina, uma pessoa especial que a vida acadêmica colocou no meu caminho! Obrigada pelas manhãs longas, tensas recheadas com conversas amigáveis.

À Sílvia Fernandes, companheira de longas reflexões sobre a vida e sobre ciência.

Às amigas que o trabalho me proporcionou, Mariana Resende Casagrande e Marina Santos Tupi Barreira. Vocês são irmãs queridas! À Ingrid Werneck Linhares pelo apoio e a delicadeza em conduzir seu trabalho, pelos incentivos constantes para fazermos diferente o que parece ser rotina.

A todos os colegas do Hospital Regional de Betim que entenderam meus momentos de ausência e a minha vontade de ir em busca de algo “a mais” para minha formação profissional.

Às voluntárias do projeto de pesquisa que tornaram possível a realização deste trabalho.

À Pró-Reitoria de Pesquisa, à FAPEMIG e ao CNPq pelo apoio financeiro.

RESUMO

Introdução: O consumo de frutose é associado com o desenvolvimento de doenças metabólicas caracterizadas pela presença de inflamação sistêmica de baixa intensidade. Entretanto, o efeito pós-prandial agudo de sobrecarga de frutose sobre marcadores inflamatórios ainda é pouco conhecido. **Objetivo:** Investigar se o consumo de refeição padronizada contendo sobrecarga de frutose interfere em marcadores metabólicos e inflamatórios pós-prandiais agudos de mulheres saudáveis. **Método:** Trata-se de estudo cruzado, randomizado, duplo-cego. As participantes receberam uma refeição mista padronizada (25% do gasto energético total) em três ocasiões distintas, composta por alimentos usuais da dieta do brasileiro acrescida de bebida adoçada com sobrecarga de sacarose ou glicose ou frutose (18 a 25 gramas de cada carboidrato). Amostra de sangue foi coletada em jejum e no pós-prandial (30, 60, 120 e 240 min). **Resultados:** Vinte duas mulheres saudáveis com média de $27,4 \pm 1,2$ anos e índice de massa corporal de $21,1 \pm 1,8$ kg/m² realizaram os três delineamentos experimentais. A glicemia aumentou 30 min após o consumo de sacarose e glicose. As concentrações séricas de triglicérides e da quantidade de leucócitos circulantes elevou 240 min após ingestão de sobrecarga de frutose. As concentrações séricas de leptina reduziram em relação ao basal (30, 60, 120 e 240 min) nos três grupos, sem interferência do tipo de carboidrato consumido. Não houve diferença estatística nas concentrações pós-prandiais de colesterol, alanina aminotransferase, aspartatoamino transferase, adiponectina, resistina, fator de necrose tumoral, interleucinas (IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17) e eotaxina em nenhum dos contextos avaliados. **Conclusão:** A ingestão de sobrecarga de frutose associada a refeição padronizada pode promover aumento de triglicérides e marcadores de inflamação aguda, caracterizando a existência de fatores de risco iniciais para obesidade e doenças metabólicas.

Palavras Chave: Frutose, Período Pós-Prandial, Inflamação, Metabolismo.

ABSTRACT

Background: Fructose overload consumption is associated with the development of metabolic diseases characterized by the presence of low intensity systemic inflammation. However, the postprandial acute effect of fructose consumption in inflammatory markers is not well known. **Objective:** To investigate whether the acute consumption of balanced diet containing fructose overload interferes in postprandial metabolic and inflammatory markers of healthy women. **Method:** Randomized, single-blinded, controlled crossover clinical trial. Each participant received a mixed meal (25% from the total energy expenditure) containing usual foods in the Brazilian diet plus a beverage sweetened with sucrose or glucose or fructose overload. Blood samples were collected in the fasted and postprandial (30, 60, 120 and 240 min). **Results:** Twenty two healthy women with 27.4 ± 1.2 years old and body mass index of 21.1 ± 0.5 kg / m² completed the three interventions. Serum glucose increased 30 min after food consumption of sucrose and glucose. The levels of triglycerides and total amount of leukocytes in the blood increased to 240 min after ingestion of fructose overload. Serum leptin concentrations were reduced in relation to baseline (30, 60, 120 and 240 min), regardless of the type of carbohydrate ingested. There was no statistical difference in the postprandial concentrations of cholesterol, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, adiponectin, resistin, interferon, tumor necrosis factor, interleukins (IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17) and eotaxin. **Conclusion:** Fructose overload associated with a standardized meal may promote hyperlipemia and acute inflammation, characterizing the existence of early risk factors for obesity and metabolic diseases.

Keywords: Fructose, Postprandial Period, Inflammation, Metabolism.

LISTA DE QUADROS

1	Impacto do consumo de bebidas adoçadas com frutose e/ ou xarope de milho rico em frutose por 24 horas até 10 semanas em marcadores metabólicos e inflamatórios de indivíduos.	21
2	Impacto do consumo agudo de bebidas adoçadas com frutose e/ ou xarope de milho rico em frutose em marcadores metabólicos e inflamatórios de indivíduos.	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácidos Graxos
ApoB	Apoproteína B
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
CC	Circunferência da Cintura
CCL-2	Proteína Quimioatrativa de Monócitos 1
CHO	Carboidrato
CQ	Circunferência do Quadril
DCV	Doença Cardiovascular
DHGA	Doença Hepática Gordurosa não Alcólica
DM	<i>Diabetes Melitus</i>
EP	Erro Padrão
FC	Frequência Cardíaca
GER	Gasto Energético de Repouso
GET	Gasto Energético Total
GLUT 2	Transportadores de Glicose 2
GLUT 5	Transportadores de Glicose 5
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
ICAM-1	Molécula de Adesão Intercelular 1
IL-1 β	Interleucina 1

IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IL-17	Interleucina 17
IL-18	Interleucina 18
IG	Índice Glicêmico
IMC	Índice de Massa Corporal
IRC	Insuficiência Renal Crônica
IFN- γ	Interferon Gama
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LDN	Lipogênese <i>de Novo</i>
LIP	Lipídio
MPO	Enzima Mieloperoxidase
NFk β	Fator Nuclear Kappa β
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAI-1	Inibidor Ativador de Plasminogênio-1
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PCR	Proteína C Reativa
PTN	Proteína
RBP-4	Proteína carreadora de retinol-4

TG	Triglicerídeos
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VCAM	Molécula de Adesão da Célula Vascular
VLDL	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade

SUMÁRIO

1	Introdução.....	13
2	Revisão da Literatura.....	16
	2.1 Frutose: ingestão, absorção e metabolismo.....	16
	2.2 Frutose e Inflamação.....	17
	2.2.1 Frutose e Inflamação Aguda.....	25
3	Objetivos.....	31
4	Métodos.....	32
4.1	Tipo de Estudo.....	32
4.2	População do Estudo.....	32
4.3	Cálculo Amostral.....	32
4.4	Delineamento Experimental.....	33
	4.4.1 Avaliação Inicial.....	33
	4.4.2 Protocolo do Estudo.....	34
4.5	Aspectos Éticos.....	40
4.6	Análise Estatística.....	38
4.7	Referências Bibliográficas.....	39
5	Resultados.....	45
	5.1 Capítulo 1: Artigo Original.....	45
6	Conclusão.....	66
	Apêndice.....	67
	Anexo.....	73
	Produções Técnicas.....	74

1 INTRODUÇÃO

A prevalência da obesidade, doenças cardiovasculares (DCV), *diabetes melitus* tipo 2 (DM2), síndrome metabólica e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGA) aumentou de forma acentuada nos últimos anos. Tais condições clínicas são caracterizadas pela presença de anormalidades metabólicas e inflamação crônica de baixa intensidade (1, 2). O estilo de vida atual, que inclui hábitos alimentares inapropriados e inatividade física, é associado ao aumento do risco de inflamação crônica de baixa intensidade com consequente desenvolvimento de doenças metabólicas. Entretanto, os efeitos da dieta na inflamação de baixa intensidade podem não ser limitados a ingestão alimentar crônica. Há evidências de alterações inflamatórias após o consumo de uma única refeição contribuindo assim, como fator de risco para a saúde (1-5).

Vários estudos pesquisaram os efeitos de bolus de gordura ou refeição com sobrecarga de gordura total associada ou não com diferentes ácidos graxos na inflamação pós-prandial (1, 3-8). A identificação da inflamação pós-prandial induzida por esses nutrientes ocorreu por meio do aumento das concentrações de marcadores pró-inflamatórios como fator de necrose tumoral (TNF), interleucina-17 (IL-17) e proteína C reativa (PCR) (3, 4, 7) em indivíduos com variado índice de massa corporal (IMC). Por outro lado, a investigação da resposta inflamatória pós-prandial a carboidratos refinados é recente e inconclusiva. O interesse por esses nutrientes, em especial a sacarose e frutose (por meio de xarope de milho rico em frutose - XMRF), emergiu depois da confirmação da associação direta entre o consumo destes e a prevalência de doenças metabólicas, descrita em estudos epidemiológicos (9-12).

Os efeitos deletérios da frutose à saúde são atribuídos ao fato do metabolismo ser diferente do observado para a glicose (13). A captação e a oxidação hepáticas de frutose independem de insulina e do estado de energia celular, respectivamente (10, 12, 14). O resultado da ausência de inibição na oxidação da frutose é a conversão rápida de toda frutose no fígado em triose-fosfato que poderá ser convertido à glicogênio, acetil-Coa, lactato e/ ou triglicerídeos (TG) (12, 13). Assim, o consumo elevado de frutose pode promover mudanças metabólicas com consequente desenvolvimento de fatores de risco como hiperuricemia, inflamação e alterações hormonais (14, 15). Também foi

observado hiperlipemia, com aumento na lipogênese *de novo* (LDN), acompanhada de resistência à insulina, devido à ingestão elevada de frutose (14-17).

Embora haja vários estudos de intervenção correlacionando o consumo crônico de frutose ao aumento da prevalência de doenças metabólicas, muitos destes foram realizados em animais (10-14). Enquanto em humanos, a maioria dos trabalhos investigaram os efeitos do consumo de sobrecarga desta hexose por poucos dias a várias semanas no estado pós-absortivo (jejum) (15-23). Dois estudos pós-prandiais clássicos incluíram a oferta de três refeições acrescidas de bebidas adoçadas na caracterização da evolução metabólica e inflamatória no contexto do ciclo circadiano por 24 horas (24, 25).

Por outro lado, os estudos pós-prandiais agudos não refletem situações alimentares típicas da população mundial que inclui diversidade de alimentos e nutrientes, dentre eles a frutose, em uma mesma refeição. Os trabalhos focaram na ingestão aguda isolada de solução ou bebida aromatizada contendo frutose como único nutriente comparado à glicose ou à sacarose (26-28). Dentre os estudos que incluíram variados nutrientes em uma mesma refeição, destaca-se a presença de escolhas metodológicas que podem interferir nos resultados. Theytaz et al. (2014) compararam refeições líquidas com aporte calórico e composição nutricional diferentes (29). No trabalho de Smeraglio et al. (2013), as refeições testadas foram padronizadas e variadas em tipos de alimentos e nutrientes. Porém, a amostra de Smeraglio et al. não foi dimensionada para avaliação da inflamação pós-prandial e os participantes apresentavam grande variação do índice de massa corporal (IMC) (30).

Estudo anterior do nosso grupo de pesquisa avaliou o efeito pós-prandial agudo de sobrecarga de frutose associado à dieta usual em modelos animais. Neste trabalho, demonstramos que o consumo da hexose intensificou a resposta metabólica e inflamatória tanto sistêmica quanto localizada nos sítios hepático e adiposo em camundongos (31). Tais resultados despertaram nosso interesse em dar continuidade ao estudo de maneira translacional. Assim, objetivamos reportar condições alimentares típicas da população mundial em amostra com características semelhantes, no intuito de diminuir fatores de interferência e esclarecer o papel agudo da frutose como gatilho para o desenvolvimento de obesidade e doenças metabólicas em humanos.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi investigar marcadores metabólicos e inflamatórios pós-prandiais em dieta mista equilibrada acrescida de sobrecarga de diferentes carboidratos incluindo a sacarose, a glicose e a frutose. A identificação

precoce de fatores de risco para o desenvolvimento de obesidade e doenças metabólicas após o consumo alimentar agudo poderá contribuir para o posterior desenvolvimento de propostas terapêuticas visando promoção e prevenção destes agravos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Frutose: ingestão, absorção e metabolismo

A frutose é um monossacarídeo encontrado na forma livre em frutas, hortaliças e mel (14, 32). Porém, grande parte da frutose da dieta provém de dois adoçantes, sacarose e XMRF, que são comumente utilizados em alimentos e bebidas industrializadas (11, 12, 14, 32). A fabricação industrial do XMRF ocorre a partir do amido de milho por meio de isolamento e hidrólise da glicose, com posterior isomerização enzimática de parte da glicose em frutose. A utilização desse adoçante rico em frutose pela indústria alimentícia cresceu de maneira progressiva devido o baixo custo e facilidade de obtenção, maior tempo de validade e elevado poder edulcorante em relação a maioria dos outros açúcares (13, 14, 32). Nesse contexto, as fontes alimentares de frutose que merecem destaque são os refrigerantes e sucos industrializados.

Comparada à sacarose, um dissacarídeo que consiste de 50% de frutose e 50% de glicose, o XMRF pode conter de 55% até 90% de frutose. (14, 15). Assim, bebidas adoçadas com XMRF podem fornecer maior dose de frutose para a circulação sistêmica que aquelas adoçadas com sacarose. Além disso, XMRF é fonte imediata de frutose e glicose livres, enquanto que a sacarose precisa ser hidrolizada primeiro pela ação da enzima sacarase (33).

O metabolismo da frutose difere daquele observado para a glicose. Após consumo alimentar, a frutose entra nos enterócitos por meio de transportadores de glicose 5 (GLUT 5) de forma passiva (12, 13, 32). O GLUT 5 é o único transportador específico para a frutose e não possui habilidade para transportar glicose e galactose (12). A frutose absorvida é transportada para o fígado e captada pelos transportadores de glicose 2 (GLUT 2) via sistema porta. A metabolização da frutose ocorre por várias vias distintas da glicose, independente da liberação pancreática de insulina (12, 13, 16, 25, 32). A frutose captada pelos hepatócitos é transformada em frutose-1-fosfato e triose-fosfato por meio de ações sequenciais da frutoquinase, aldolase B e trioquinase. As duas primeiras enzimas não são inibidas pela adenosina-5-fosfato (ATP) e pelo citrato, como ocorre no metabolismo da glicose. Por isso, a metabolização da frutose não é regulada

pelo estado de energia celular (10, 12, 13, 32). A inibição do metabolismo da glicose pelo aumento da concentração de ATP e citrato acarreta redução da captação hepática desse monossacarídeo com consequente hiperglicemia (13). O resultado da ausência de inibição na oxidação da frutose é a conversão rápida de toda frutose no fígado em triose-fosfato. A triose-fosfato é, em seguida, oxidado na mitocôndria a dióxido de carbono e água ou transformado em glicose e lactato que são liberados na corrente sanguínea ou podem ser convertidos em glicogênio hepático (12, 13).

Quando a mitocôndria hepática não consegue metabolizar o excesso de acetil-CoA, o substrato excedente se desloca para o citosol na forma de citrato que é posteriormente clivado e libera acetil-CoA e oxalacetato. O acetil-Coa é então substrato para a síntese de ácidos graxos (AG), que por sua vez, é re-esterificado a triacilglicerol, processo denominado LDN (12, 32). Tal processo é acelerado por efeito direto da síntese de AG e de forma indireta pelo aumento dos níveis de malonil-CoA, metabólito intermediário, que impede a entrada de AG para dentro da mitocôndria. Isso ocorre por inibição da enzima carnitina palmitoiltransferase 1 e assim, reduz a beta oxidação (12).

Os TG produzidos podem ser exportados do fígado em partículas de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) que contêm a apolipoproteína B100 (apoB100) como a apolipoproteína principal. A degradação da apoB100 é inibida pela síntese de AG e consequente formação de TG, acarretando aumento da concentração hepática dessa partícula após consumo de frutose (12).

Estudos em animais observaram aumento do conteúdo intrahepático de gordura e das concentrações séricas de VLDL (31, 34), colesterol total e TG (31) após consumo de dieta rica em frutose. Em humanos, a ingestão de frutose prolongada associada a dieta, comparada a glicose ou à frutose, promoveu aumento do colesterol, da LDN, das concentrações de TG e apoB no estado pós-absortivo (15, 35).

2.2 Frutose e Inflamação

Além dos efeitos diretos do consumo de frutose na resposta metabólica, sugere-se também a ativação de mediadores inflamatórios induzida por este nutriente que por sua vez, contribuem para o desenvolvimento de alterações metabólicas (12, 13, 20, 25). A inflamação, denominada inflamação crônica de baixa intensidade, tem emergido como importante ponto na etiologia de enfermidades relacionadas a idade e doenças metabólicas como obesidade, DCV, DM2, DHGA e síndrome metabólica (13, 36, 37).

Tal inflamação difere da descrita em doenças inflamatórias que é caracterizada por dor, rubor, inchaço, calor e perda da função, além da elevação marcante das concentrações de mediadores inflamatórios e ativação de células inflamatórias no local do dano tecidual e na circulação sistêmica (36, 38, 39). Na inflamação crônica de baixa intensidade, células inflamatórias, citocinas proinflamatórias, quimiocinas e moléculas de adesão solúveis e mediadores protrombóticos estão aumentados, porém de forma modesta, normalmente com valores inferiores ao dobro do observado em controles (36, 38).

A inflamação associada à obesidade parece ser decorrente tanto do aumento da massa adiposa, com consequente hiperplasia e hipóxia tecidual (39), como do perfil de nutrientes ingeridos (37). As alterações inflamatórias desencadeadas pela dieta podem interferir no metabolismo fisiológico e alterar a sinalização de insulina levando ao desenvolvimento de doenças (39). Nesse contexto, o efeito do consumo de nutrientes e dos padrões alimentares sobre os marcadores inflamatórios têm sido investigados (37, 38, 40). Estudos prévios demonstraram que diferentes composições e quantidades de lipídios ou de carboidratos, quando consumidos a longo prazo, causam inflamação crônica de baixa intensidade (37, 40).

Em humanos, alguns estudos investigaram a relação entre consumo de frutose por até 10 semanas e inflamação (20, 21, 23-25). O aumento da concentração de proteína C reativa (PCR), após ingestão de baixa e moderada quantidade de bebida adoçada com frutose adicionada à dieta usual por três semanas foi verificado por Aeberli et al. (20). Cox et al. (23) observaram aumento das concentrações séricas da proteína quimioatrativa de monócitos 1 (CCL-2), inibidor ativador de plasminogênio-1 (PAI-1) e E-selectina depois do consumo da hexose por dez semanas. No entanto, nesse último trabalho não foram observadas alterações nas concentrações de PCR e interleucina 6 (IL-6) em relação ao basal e em comparação a ingestão de glicose (23). A discrepância dos resultados encontrados para alguns marcadores inflamatórios pode ser decorrente da especificidade dos kits utilizados para análise, características da amostra, quantidade de hexose consumida e tempo da intervenção.

O efeito da frutose na concentração sérica de outros mediadores inflamatórios como adiponectina, leptina e grelina também foi investigado em humanos. A concentração de adiponectina reduziu após consumo de bebida adoçada com frutose associada à dieta balanceada em indivíduos com excesso de peso (21). No entanto, outro trabalho não verificou alteração dos valores de adiponectina em relação ao jejum ou à

ingestão de glicose em homens jovens saudáveis (20). Já as concentrações de leptina reduziram independente do peso corporal (24, 25) e houve menor supressão de grelina em mulheres saudáveis (24), porém sem diferença em indivíduos obesos (25).

Em modelos animais, o consumo crônico de frutose foi associado ao aumento da concentração sanguínea de interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), interleucina 18 (IL-18), fator de necrose tumoral (TNF) (41-43). A elevação de IL-1 β , IL-6, IL-18 e da expressão de TNF, molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e enzima mieloperoxidase (MPO) foi observada no tecido renal (42, 43). No tecido hepático, Kanuri et al. (44) verificaram aumento da quantidade de neutrófilos e ICAM-1 (44). Destaca-se também a diminuição das concentrações de adiponectina e a elevação de leptina plasmática associadas à oferta da hexose (41).

Apesar do reduzido número de trabalhos em humanos averiguando a ação da frutose sobre marcadores inflamatórios (20, 23-25), ressalta-se a existência de estudos que identificaram alterações metabólicas e vasculares associadas ao consumo deste nutriente (15, 16, 20, 45). Assim, tais resultados podem fortalecer a relação entre consumo de frutose, inflamação e doenças metabólicas, uma vez que tanto a hiperglicemia quanto à hiperlipemia são associadas à inflamação (12, 20, 25, 46).

O resumo de alguns estudos que avaliaram a ingestão de frutose por curto ou longos períodos em relação a marcadores metabólicos e inflamatórios está descrito no quadro 1. Os trabalhos que incluíram a avaliação inflamatória apresentam um (*) próximo ao nome dos autores.

Quadro 1 - Impacto do consumo de bebidas adoçadas com frutose e/ ou xarope de milho rico em frutose por 24 horas até 10 semanas em marcadores metabólicos e inflamatórios de indivíduos.

Autores	Objetivo	Método	Amostra	Conclusão
Stanhope et al. (19)	Determinar o efeito dose-resposta do consumo de bebidas adoçadas com diferentes concentrações de XMRF (0%, 10%, 17,5% e 25%) nos fatores de risco (lipídios e lipoproteínas) para DCV e ácido úrico.	Estudo duplo mascarado, paralelo, 03 etapas com duração de 02 semanas, 1ª) 3,5 d: internação com consumo de dieta padronizada; 2ª) 12 d: ambulatório com consumo de dieta livre + bebida adoçada com XMRF; 3ª) 3,5 d: internação com dieta padronizada + bebida adoçada com XMRF. Concentração XMRF: 0%, 10%, 17,5% e 25% do GET.	85 indivíduos (pareados por sexo, IMC, TG, colesterol total, HDL-colesterol, insulina em jejum)	O consumo de bebidas adoçadas com XMRF contendo 10%, 17,5% ou 25% do GET produz aumento dose-dependente na circulação de fatores de risco para DCV e ácido úrico.
Heden et al. (22)	Comparar os efeitos metabólicos do consumo por curto período de bebidas adoçadas com alta dose de frutose ou glicose em adolescentes.	Estudo simples mascarado, cruzado, 02 fases com duração de 2 semanas realizadas em sequência randomizada: - HF: 710mL de bebida/ dia (50g frutose + 15g de glicose); - HG: 710mL de bebida/ dia (50g glicose + 15g de frutose). Bebidas consumidas com dieta habitual livre.	40 adolescentes com diferentes IMC	Moderada quantidade de bebidas adoçadas com glicose e frutose não modificaram as concentrações de colesterol, TG, glicose e <i>clearance</i> hepático de insulina no jejum e no pós-prandial.
Aeberli et al. (17)	Avaliar o efeito de moderada quantidade de frutose no metabolismo da glicose e lipídios.	Estudo duplo mascarado, cruzado, 04 fases com duração de 3 semanas realizadas em sequência randomizada: - média frutose (40g/d); - alta frutose (80g/d); - alta glicose (80g/d); - alta sacarose (80g/d). Bebidas consumidas com dieta habitual livre.	09 homens saudios	Moderada quantidade de frutose e sacarose altera a sensibilidade insulínica hepática e o metabolismo lipídico comparada com similar quantidade de glicose.

Autores	Objetivo	Método	Amostra	Conclusão
Rezvani et al.* (21)	Determinar os efeitos do consumo de frutose e glicose nas concentrações de proteína estimulante de acilação, adiponectina e leptina, TG, sensibilidade à insulina, peso corporal e adiposidade.	Estudo duplo mascarado, paralelo, indivíduos divididos em 02 grupos com 3 etapas: 1ª) Indivíduos internados por 2 semanas (dieta balanceada: 55% CHO complexo, 30% LIP, 15% PTN); 2ª) Indivíduos em domicílio por 8 semanas (dieta usual + 25% do GET em bebidas com frutose ou glicose); 3ª) Indivíduos internados por 2 semanas (dieta balanceada com 25% do GET em bebidas com frutose ou glicose, 30% CHO complexo, 30% LIP, 15% PTN).	32 indivíduos (excesso de peso/ obesidade)	O consumo de bebidas adoçadas com frutose e glicose induz modificações nas concentrações plasmáticas de proteína estimulante de acilação, adiponectina e leptina.
Cox et al.* (47)	Investigar os efeitos do consumo de frutose ou glicose nas concentrações plasmáticas de ácido úrico e RBP-4, bem como na atividade de enzimas hepáticas (AST, ALT, GGT).	Estudo randomizado, paralelo em 03 etapas: 1ª) Indivíduos internados por 2 semanas: consumo de dieta balanceada em energia (55% CHO complexos, 15% PTN, 30% LIP, IG = 64); 2ª) Indivíduos no domicílio por 8 semanas: consumo de bebidas adoçadas (25% das GET) + dieta usual; 3ª) Indivíduos internados por 2 semanas, consumo de bebidas adoçadas (25% GET) + dieta balanceada em energia (55% CHO complexos, 15% PTN, 30% LIP, IG = 64).	39 indivíduos (pareados por sexo, IMC, TG e insulina em jejum), sendo que 32 completaram o estudo.	Consumo de bebidas adoçadas com frutose em relação ao consumo isocalórico de glicose aumentou ácido úrico em jejum e área sob a curva, bem como as concentrações de RBP-4 e atividade GGT. Aumento de RBP-4 e GGT foi associado com > TG (trabalho prévio).

Autores	Objetivo	Método	Amostra	Conclusão
Aeberli et al.* (20)	Investigar os efeitos de bebidas adoçadas com açúcar em pequena e moderada quantidade por 3 semanas sobre marcadores do metabolismo da glicose e insulina, e em marcadores inflamatórios (PCR, leptina, adiponectina, grelina).	Estudo randomizado, cruzado, duplo mascarado para 06 diferentes intervenções com duração de 3 semanas com intervalo de 4 semanas entre as intervenções. - 40gr frutose (MF); - 80gr frutose (HF); - 40gr glicose (MG); - 80gr glicose (HG); - 80gr sacarose (HS); - aconselhamento nutricional para reduzir frutose.	29 homens sadios	Consumo baixo ou moderado de bebidas adoçadas com açúcar apresenta efeito prejudicial em marcadores de risco cardiovascular tais como partículas de LDL, glicose e PCR.
Cox et al.* (23)	Avaliar o efeito do consumo de frutose ou glicose nas concentrações plasmáticas de MCP-1, PAI-1, E-selectina, ICAM-1, PCR e i IL-6.	Estudo randomizado, paralelo em 03 etapas: 1ª) Indivíduos internados por 2 semanas: consumo de dieta balanceada em energia (55% CHO complexos, 15% PTN, 30%LIP, IG = 64); 2ª) Indivíduos no domicílio por 8 semanas: consumo de bebidas adoçadas (25% das GET) + dieta usual; 3ª) Indivíduos internados por 2 semanas, consumo de bebidas adoçadas (25% GET) + dieta balanceada em energia (55% CHO complexos, 15% PTN, 30%LIP, IG = 64).	39 indivíduos (pareados por sexo, IMC, TG e insulina jejum), sendo 32 completaram o estudo.	Aumento de MCP-1, PAI-1 e E-selectina após consumo de frutose por 10 semanas. Esses achados sugerem a possibilidade da frutose contribuir para o desenvolvimento da síndrome metabólica pelos efeitos em mediadores proinflamatório e protrombótico
Stanhope et al. (16)	Avaliar os efeitos do consumo de glicose, frutose XMRF (25% do GET) no risco de DCV.	Estudo randomizado, paralelo em 03 etapas: 1ª) 3,5 dias de internação: refeições balanceadas; 2ª) 12 dias no domicílio: refeições balanceadas com alimentos usuais + XMRF (25% do GET); 3ª) 3,5 dias de internação: refeições balanceadas com alimentos usuais + XMRF (25% do GET).	48 indivíduos (pareados por sexo, IMC, TG, colesterol T, HDL e insulina em jejum).	Consumo XMRF por 2 semanas aumenta o risco de DCV aumentou após consumo de XMRF em relação a frutose e a glicose.

Autores	Objetivo	Método	Amostra	Conclusão
Stanhope et al. (45)	Determinar se o aumento dos efeitos adversos do consumo da frutose mais que da glicose foram associados com elevação da glicose e insulina circulantes.	Estudo randomizado, paralelo em 03 etapas: 1ª) Indivíduos internados por 2 semanas: consumo de dieta balanceada em energia (55% CHO complexos, 15% PTN, 30%LIP. IG = 64); 2ª) Indivíduos em domicílio por 8 semanas: consumo de bebidas adoçadas (25% das GET) + dieta usual; 3ª) Indivíduos internados por 2 semanas: consumo de bebidas adoçadas (25% GET) + dieta balanceada em energia (55% CHO complexos, 15% PTN, 30%LIP. IG = 64).	39 indivíduos (pareados por sexo, IMC, TG e insulina em jejum), sendo que 17 finalizaram o estudo.	Consumo de frutose reduziu os picos de glicose e insulina pós-prandial e área sob a curva comparado com período basal e glicose. Albumina glicada plasmática foi menor após consumo de frutose, sem diferença na concentração de frutamina.
Stanhope et al. (15)	Avaliar os efeitos de glicose e frutose (25% GET) em indivíduos com sobrepeso e obesidade.	Estudo duplo mascarado, paralelo, indivíduos divididos em 02 grupos com 3 etapas: 1ª) Indivíduos internados por 2 semanas: dieta balanceada: 55% CHO complexo, 30% LIP, 15% PTN; 2ª) Indivíduos em domicílio por 8 semanas: dieta usual + 25% do GET de bebidas com frutose ou glicose; 3ª) Indivíduos internados por 2 semanas: dieta balanceada, sendo 25% do GET com bebidas com frutose ou glicose, 30% CHO complexo, 30%LIP,15% PTN).	32 indivíduos com diferentes IMC	Consumo de frutose aumenta a LDN, promove dislipidemia, reduz a sensibilidade à insulina e aumenta o tecido adiposo visceral.
Teff et al.* (25)	Comparar os efeitos de bebidas adoçadas com glicose e frutose consumidas com refeições nos substratos metabólicos e hormonais de pacientes obesos.	Estudo randomizado, cruzado em 02 etapas com intervalo de um mês: 1ª) duas noites no centro de pesquisa; 2ª) duas noites no domicílio. Oferecidas 3 refeições + bebida adoçada (25% GET café da manhã + 35% GET almoço + 40% GET jantar).	17 indivíduos obesos	Em obesos, consumo de bebidas adoçadas com frutose com refeições foi associado com menor secreção de insulina e leptina, e aumento pós-prandial de TG comparado com a ingestão de glicose.

Autores	Objetivo	Método	Amostra	Conclusão
Stanhope et al. (48)	Comparar os efeitos metabólicos e endócrinos do XMRF e sacarose. Em subgrupo de indivíduos, comparação realizada após ingestão de glicose e frutose puras.	Estudo randômico, duplo mascarado, cruzado em 02 fases com intervalo de um mês. - 03 refeições idênticas que incluíram bebidas adoçadas com XMRF ou sacarose. Subgrupo com oito homens completou 2 dias de estudos adicionais com consumo de bebidas adoçadas com 100% frutose ou 100% sacarose.	34 indivíduos com IMC variado	Consumo de sacarose e XMRF por curto período não promoveu diferentes efeitos metabólicos. Em homens, o consumo de sacarose e XMRF por curto período resultou em resposta pós-prandial TG similar à verificada com a frutose.
Swarbrick et al. (35)	Investigar os efeitos metabólicos do consumo de bebidas adoçadas com frutose em condições de balanço energético em local de pesquisa controlado.	Estudo cruzado, indivíduos estudados em 03 etapas: 1ª) Final de 4 semanas de início do estudo (antes da intervenção); 2ª) 2 semanas durante a intervenção; 3ª) 10 semanas no final da intervenção. Início do estudo: dieta balanceada para manutenção do peso.	07 mulheres pós menopausa com excesso de peso ou obesidade	Consumo de frutose como parte de dieta para manutenção de peso por 10 semanas aumentou a glicemia em jejum, TG e apoB pós-prandial em mulheres com excesso de peso.
Teff et al.* (24)	Examinar a concentração de glicose, TG, AG livre, insulina, leptina, grelina e forma ativa de GLP-1 durante o consumo de frutose por período de 24h.	Estudo cruzado, randomizado, indivíduos estudados em 02 fases com intervalo de um mês. - duas noites no centro de pesquisa (24h- ingestão alimentar controlada + bebida adoçada glicose; 12h- dieta liberada); - duas noites no centro de pesquisa (24h- ingestão alimentar controlada + bebida adoçada frutose; 12h- dieta liberada).	12 mulheres sadias	Consumo de bebidas adoçadas com frutose durante as refeições resulta em menores concentrações de insulina e de leptina, e aumento de grelina e TG comparado com glicose.

Legenda: AG – Ácido graxo; ALT – Alanina aminotransferase; AST – Aspartato aminotransferase; ApoB – Apolipoproteína B; CHO – Carboidrato; DCV – Doença cardiovascular; IG – Índice glicêmico; GET – Gasto energético total; GGT – Gama glutamil transpeptidases; IMC – Índice de massa corporal; IL-6 – Interleucina-6; HDL – Lipoproteína de alta densidade; LDL - Lipoproteína de baixa densidade; MCP-1 - Proteína quimiotraente de monócitos; PAI - Inibidor do ativador de plasminogênio ; PCR – Proteína C reativa; PTN – Proteína; RBP-4 – Proteína carreadora de retinol-4; TG – Triglicerídeos; VCAM - molécula de adesão intercelular; XMRF – Xarope de milho rico em frutose. * Trabalhos que incluíram a avaliação inflamatória.

2.2.1 Frutose e Inflamação Aguda

Outra abordagem interessante envolve a investigação das alterações inflamatórias e metabólicas induzidas pelo consumo alimentar no estado pós-prandial, ou seja, momento após uma única refeição. Nos últimos anos, houve crescente conscientização sobre a importância dos eventos no estado alimentado no desenvolvimento e exacerbação de doenças metabólicas (1, 2, 8). O estado alimentado é um período dinâmico caracterizado por fluxo metabólico complexo, biossíntese e metabolismo oxidativo intenso. Tal período promove distúrbio homeostático rápido que em condições adequadas, é rapidamente reestabelecido, não sendo prejudicial ao organismo. No entanto, o consumo excessivo de nutrientes e o desequilíbrio metabólico prolongado podem sobrepor-se à capacidade adaptativa do organismo acarretando em disfunção celular e doença (5, 49).

Encontra-se na literatura interesse crescente sobre o efeito inflamatório desencadeado pelo consumo agudo de nutrientes isolados ou combinados à refeição em indivíduos. Dentre os trabalhos existentes, os lipídios são os nutrientes estudados com maior frequência (3, 4, 6, 7, 50, 51). O aumento dos mediadores inflamatórios TNF, IL-6 e IL-17 após consumo agudo de refeição rica em lipídios foi descrito em indivíduos com excesso de peso por Peluso et al. (7). Resultado semelhante na concentração de IL-6 foi observado em homens obesos, porém diminuição transitória de TNF também ocorreu no período investigado (50). As concentrações plasmáticas de IL-6 aumentaram e de PAI-1 reduziram após testes orais de tolerância à gordura compostos por diferentes razões de AG em homens com ou sem hipertrigliceridemia. Enquanto as concentrações de ICAM-1 e PCR aumentaram apenas no grupo dislipidêmico (4). No entanto, em estudo similar realizado em homens com síndrome metabólica, as concentrações de IL-6, receptor solúvel de IL-6 e PCR pós-prandiais não modificaram depois de testes orais de tolerância à gordura em comparação a ingestão de água (6). Poppitt et al. (51) observaram aumento tardio de IL-6 após consumo de refeição rica em lipídio, com diferentes teores de AG saturado, em homens jovens saudáveis. Entretanto, TNF, PCR e adiponectina não foram influenciados pela alimentação (51), enquanto ocorreu redução pós-prandial de leptina (52). Em indivíduos com excesso de peso, a concentração plasmática de TNF foi reduzida após refeições ricas em energia e lipídios com diferentes composições de AG. Porém, não houve alteração das concentrações da molécula de adesão da célula vascular (VCAM) e PCR. No entanto, a concentração de

ICAM-1 e fator nuclear kappa β (NF κ B) modificaram de forma diferente conforme o tipo de AG ingerido (3).

O papel agudo da glicose na resposta inflamatória também tem sido explorado. A administração venosa de glicose foi associada à elevação de TNF, IL-6 e IL-18 em indivíduos com adequada ou alterada tolerância à glicose (53). Entretanto, os resultados acima descritos para TNF e IL-6 não foram confirmados quando a oferta de glicose foi realizada por via oral em voluntários com excesso de peso (54). O teste oral de tolerância à glicose promoveu aumento da ativação nuclear de NF κ B em células mononucleares em indivíduos eutróficos (55).

Trabalhos anteriores investigaram o efeito agudo do consumo de soluções (bolus) contendo frutose sobre a resposta inflamatória (26, 28, 30, 46). A exemplo, Mah et al. (46) mostraram que a ingestão de frutose (75g), comparada à glicose (75g), em homens jovens não alterou as concentrações séricas de PCR, IL-6, IL-10, TNF, VCAM-1, E-selectina e a atividade da MPO nos períodos pós-prandiais. Por outro lado, quantidade intermediária de frutose (50g) foi associada a aumento da PCR em grupo de indivíduos saudáveis (28). Por outro lado, bolus com concentrações menores de frutose (36g) não induziram alteração na concentração de leptina (26). Os trabalhos acima referidos, além da quantidade de frutose diferiam quanto ao sexo e IMC dos participantes, fatores que podem influenciar os resultados. O trabalho que avaliou o efeito da frutose (35 a 45 gramas) em conjunto com refeição sólida equilibrada de consistência variada (~ 30% do gasto energético total calculado por fórmula) sobre as concentrações de leptina não evidenciou modificações relacionadas ao consumo da hexose (30).

O quadro 2 apresenta estudos investigando a oferta oral aguda de frutose na resposta metabólica e/ou inflamatória no período pós-prandial. Os trabalhos que incluíram alguma avaliação inflamatória apresentam um (*) próximo ao nome dos autores.

Quadro 2 - Impacto do consumo agudo de bebidas adoçadas com frutose e/ ou xarope de milho rico em frutose em marcadores metabólicos e inflamatórios de indivíduos.

Autores	Objetivo	Método	Amostra	Conclusão
Yau et al.* (26)	Examinar o esvaziamento gástrico e a resposta de hormônios gastrointestinais à ingestão de frutose e glicose precedida de suplementação dietética com frutose por três dias.	Estudo simples mascarado, randomizado, cruzado com 04 fases precedidas com suplementação de 500mL de frutose (30g/ d) ou água por 3 dias associada à dieta habitual controlada antes da intervenção. Intervenção: - Solução de frutose (36g); - Solução de glicose (36g).	10 homens saudios	O esvaziamento gástrico do grupo frutose seguido à suplementação prévia com frutose foi mais rápido e pode ser parcialmente explicado pela mudança sutil na supressão pós-prandial retardada de grelina.
Gallagher et al. (27)	Determinar o efeito da sacarose, frutose e sucralose na concentração de TG, glicose e insulina em estudo agudo com indivíduos saudios, sobrepeso e obesos.	Estudo duplo mascarado, cruzado, randomizado com 3 fases: - Refeição teste (Muffin) com frutose (52g); - Refeição teste (Muffin) com sacarose (65g); - Refeição teste (Muffin) com sucralose; Muffin apresentava quantidade padronizada de LIP. Participantes poderiam tomar chá ou café sem adoçante durante a refeição.	27 indivíduos com diferentes IMC	Frutose, em dose moderada, não elevou TG comparado a sacarose e sucralose. A AUC para glicose reduziu no grupo frutose.
Jameel et al.* (28)	Comparar os efeitos do consumo de frutose, glicose e sacarose na lipemia e inflamação (avaliada por meio da PCR alta-sensibilidade) pós-prandial.	Estudo simples mascarado, cruzado, randomizado com 3 fases. - 50g de sacarose; - 50g de glicose; - 50g de frutose.	14 indivíduos saudios	A frutose modula os lipídios plasmáticos e concentração de PCR alta-sensibilidade em indivíduos saudios.

Autores	Objetivo	Método	Amostra	Conclusão
Theytaz et al. (29)	Avaliar o destino metabólico da frutose ingerida em uma refeição mista com ou sem glicose.	Estudo duplo mascarado, cruzado, randomizado em 03 fases com ingestão de refeição mista líquida: - Frutose + glicose (0,3g/ kg de LIP; 0,3g/ kg de PTN; 0,3g/ kg de glicose; 0,3g/ kg de frutose), 30% GET; - Frutose (0,3g/ kg de LIP; 0,3g/ kg de PTN; 0,5g/ kg de frutose), 30% GET; - PTN e LIP: (0,3g/ kg de LIP; 0,3g/ kg de PTN), 15% GET.	8 indivíduos sadios	Ingestão de frutose juntamente com refeição mista contribuiu para gliconeogênese, produção de ácido láctico e LDN hepática e intestinal.
Smeraglio et al.* (30)	Verificar se a diminuição da oxidação de GORD e aumento da oxidação de CHO pode ser decorrente do consumo de dieta rica em frutose.	Estudo duplo mascarado, cruzado, randomizado com oferta de refeição equilibrada associada à bebida em 2 fases: - Bebida adoçada com frutose (30% GET); - Bebida adoçada com glicose (30% GET); Refeição: 15% PTN; 30% LIP; 55% CHO; sendo 25% de CHO complexo.	12 homens eutróficos e com excesso de peso	A concentração de insulina foi maior no grupo glicose, sem diferença entre os grupos para a concentração de glicose, TG e leptina. O IMC correlacionou com alteração da oxidação de LIP após dieta rica em frutose.
Mah et al.* (46)	Verificar se a hiperglicemia pós-prandial pode reduzir a função vascular em homens sadios.	Estudo simples mascarado, cruzado, randomizado com 2 fases. - 75g de glicose em 240mL de água; - 75g de frutose em 240mL água.	16 homens sadios	A ingestão de frutose, comparada à glicose, não alterou a concentração sérica de PCR, IL-6, IL-10, TNF, VCAM-1, E-selectina e atividade MPO.
Parks et al. (56)	Determinar a magnitude com que o consumo agudo de frutose em <i>bolus</i> isolado ou associado a consumo posterior de refeição estimula a lipogênese.	Estudo simples mascarado, cruzado, randomizado com 3 fases. - Solução 100% de glicose; - Solução 50% glicose e 50% frutose; - Solução 25% glicose e 75% frutose; Solução de carboidrato forneceu 14% do GET diário (média 85 gramas).	6 indivíduos sadios	O consumo de soluções de carboidrato contendo frutose em jejum estimula a lipogênese com consequente aumento da lipemia pós-prandial. Sem diferença na leptina e adiponectina.

Autores	Objetivo	Método	Amostra	Conclusão
Chong et al. (57)	Investigar os mecanismos envolvidos na hipertrigliceridemia induzida por frutose e a contribuição da LDN.	Estudo simples mascarado, cruzado, randomizado com 2 etapas: - Bebida emulsificada com chocolate e sabor limão * 0,75g/ kg de peso de açúcar (frutose ou sacarose) + 0,5g/ kg de peso de óleo.	14 indivíduos saudáveis	A menor excursão de insulina após frutose pode resultar em menor ativação da LLP, que leva a piora do <i>clearance</i> de TG. A contribuição da LDN na hipertrigliceridemia foi pequena. Maior oxidação de CHO e maior esterificação de AG ocorreu no grupo frutose.

Legenda: AG –Ácido graxo; AUC – Área sob a curva; CHO – Carboidrato; IL-6 –Interleucina 6; IL-10 – Interleucina 10; GET – Gasto energético total; IMC – Índice de massa corporal; LIP – Lipídio; LDN – Lipogênese de novo; LLP – Lipase lipoproteica; PCR – Proteína C reativa; PTN – Proteína; TG – Triglicerídeos; TNF – Fator de necrose tumoral; MPO – Enzima mieloperoxidase; VCAM – molécula de adesão. * Trabalhos que incluíram a avaliação inflamatória.

Trabalho anterior do nosso grupo de pesquisa, demonstrou que camundongos BALB-C alimentados com dietas contendo diferentes tipos de carboidratos (glicose, frutose e sacarose) em quantidades isocalóricas apresentaram inflamação pós-prandial sistêmica e localizada nos sítios hepático e adiposo. Além disso, a ingestão de frutose intensificou o efeito observado, pois o consumo agudo desta hexose aumentou os leucócitos circulantes, reduziu a concentração sérica de adiponectina e intensificou o aumento das citocinas TNF e IL-6 no fígado e tecido adiposo, respectivamente. O aumento do infiltrado de neutrófilos nos sinusóides hepáticos também foi observado (31).

Assim, diante da evidência experimental em modelo animal de que o consumo de frutose associado a outros nutrientes possa ter efeito agudo sobre a inflamação em sítios específicos e também sistêmico torna-se interessante investigar os efeitos inflamatórios desta hexose em mulheres saudáveis no contexto de refeições usuais compostas por alimentos e nutrientes diversificados em quantidade padronizada. Além disso, é interessante ampliar o número de marcadores sistêmicos investigados e assegurar que o aporte calórico da dieta ofertada esteja dentro da necessidade individual do participante, evitando viés associado à hiperalimentação. A identificação precoce da presença de fatores de risco para o desenvolvimento de doenças metabólicas após o consumo alimentar agudo poderá contribuir para o posterior desenvolvimento de propostas terapêuticas visando promoção e prevenção destes agravos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

Investigar se o consumo agudo de sobrecarga de frutose modula marcadores metabólicos e inflamatórios pós-prandiais de mulheres saudáveis comparado à sacarose e à glicose.

3.2 Objetivos específicos:

- Caracterizar o perfil antropométrico e de saúde das participantes;
- Analisar marcadores metabólicos e inflamatórios no período de jejum das mulheres antes de cada intervenção.
- Determinar se refeição padronizada rica em frutose modifica marcadores metabólicos e de inflamação sistêmica no período pós-prandial.

4 MÉTODOS

4.1 Tipo de Estudo

Trata-se de estudo cruzado, duplo cego, randomizado quanto à ordem das intervenções.

4.2 População do Estudo

A população do estudo constituiu-se de mulheres jovens com idade entre 20 e 45 anos com peso normal conforme índice de massa corporal, que aceitaram participar mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A). Foram excluídas da pesquisa as voluntárias que relataram ser portadoras de doenças crônicas e metabólicas como diabetes *Melitus* (DM), insuficiência renal crônica (IRC), hipertensão arterial, doença cardíaca ou hepática; síndrome metabólica; doença inflamatória, infecciosa ou autoimune, glicemia > 99 mg / dL; triglicerídeos > 200 mg / dL; pressão arterial > 140 X 90 mg / dL; operação prévia para perda de peso; uso de medicamento para dislipidemia, sensibilidade à insulina ou DM, IRC, hipertensão arterial, doença cardíaca e hepática, anti-inflamatório, alterações da tireoide e, perda de peso; tabagistas ou com consumo diário de bebida alcoólica maior que duas doses (APÊNDICE B).

O projeto foi aprovado pela Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE 21852314.7.0000.5149/ 2014). Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) antes do início do estudo (ANEXO A). O protocolo do estudo foi registrado na plataforma de ensaios clínicos [Clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) (NCT02570633).

4.3 Cálculo Amostral

Os objetivos primários deste trabalho visaram identificar alterações estatísticas em três marcadores séricos de relevância para o estudo. O dimensionamento da amostra de

17 indivíduos considerou o maior número de indivíduos necessários para a detecção de diferença de no mínimo 11 mg / dL nas concentrações de triglicérides (15), 1,2 ng / mL nas concentrações de adiponectina (21) e 1,9 pg / mL nas concentrações de TNF (estudo piloto) antes e após ingestão de sobrecarga de frutose. O nível de confiança de 95% e poder estatístico do teste de 80% foi considerado (58).

4.4 Delineamento experimental

A figura 1 apresenta o delineamento experimental que incluiu quatro avaliações, sendo a primeira denominada avaliação inicial e as últimas, consideradas como as intervenções do estudo.

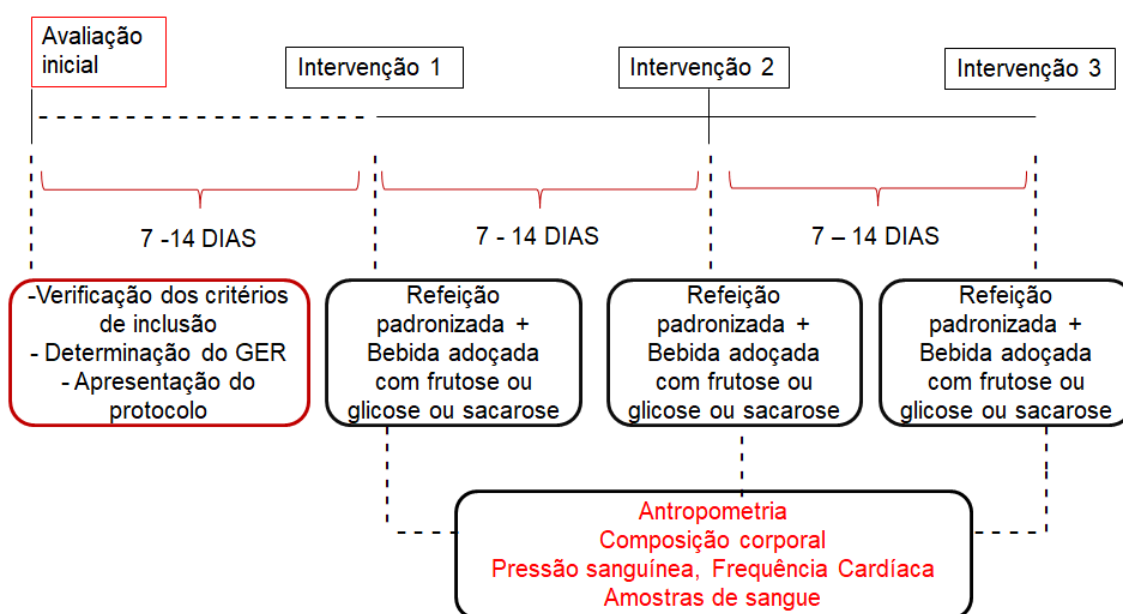


Figura 1: Delineamento experimental do estudo

GER – Gasto energético de repouso

4.4.1 Avaliação inicial

As voluntárias receberam material de divulgação da pesquisa por meio eletrônico na comunidade acadêmica da UFMG. As mulheres interessadas compareceram ao ambulatório para a entrevista inicial para apresentação do protocolo de pesquisa e avaliação dos critérios de inclusão após jejum noturno de 11 horas. Depois de repouso por 30 min, ocorreu a aferição dos dados antropométricos e de

pressão arterial; avaliação da composição corporal e do gasto energético de repouso (GER).

A avaliação antropométrica incluiu a aferição do peso, altura com subsequente cálculo do IMC (peso / altura²), circunferência da cintura (CC) e do quadril (CQ). A CC foi obtida na menor curvatura localizada entre as costelas e o osso do quadril. A aferição da CQ ocorreu por meio de fita métrica posicionada ao redor da maior área da região glútea na mesma posição descrita acima, exceto pelos pés que estavam juntos. A obtenção dessas medidas permitiu o cálculo da relação cintura/ quadril ($RCQ = CC \text{ (cm)} / CQ \text{ (cm)}$) (59).

A mensuração da composição corporal ocorreu por meio de bioimpedância elétrica com as participantes deitadas em decúbito dorsal, com os braços posicionados paralelos ao corpo e pernas entreabertas. Para obtenção da reatância e da resistência, foi utilizado o aparelho Quantum (RJM Systems, Michigan, EUA). Tais resultados serviram para o cálculo da gordura corporal e massa livre de gordura segundo equação desenvolvida por Chumlea et al. (2002).

As pressões sistólica e diastólica e frequência cardíaca foram aferidas com as voluntárias sentadas, braço apoiado em superfície firme com braçadeiras nas dimensões adequadas, ajustadas à circunferência do braço, utilizando-se monitor digital, modelo HEM705CP® (Omrom).

A mensuração do gasto energético de repouso (GER) ocorreu por meio de calorimetria indireta, utilizando-se o aparelho MetaCheck da marca KORR® conforme orientações do fabricante após calibração do equipamento antes de cada avaliação.

4.4.2 Protocolo do Estudo

As voluntárias que preencheram aos critérios de inclusão foram alocadas para receber as três intervenções em dias distintos de forma randômica com intervalo mínimo de 7 dias (26, 28, 32). As participantes receberam orientação para manter o consumo alimentar e a atividade física usual e, a preencher registro alimentar de três dias (dois dias de semana e um dia referente a final de semana) durante o intervalo entre as intervenções. Houve recomendação para não realizarem atividade física moderada a intensa (> 2 horas/ dia) (60) e não consumirem bebidas alcoólicas ou cafeinadas nas 24 horas anteriores às fases do estudo.

No dia de cada intervenção, as participantes compareceram em jejum noturno de 11 horas e após 30 min de repouso, foram aferidos dados antropométricos, pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC) e avaliação da composição corporal conforme procedimentos descritos na avaliação inicial. A inserção de cateteres do tipo *scalp* no braço esquerdo foi realizada para coleta de amostra de sangue por enfermeiro treinado, sendo a primeira realizada em jejum. Em seguida, a refeição foi oferecida e consumida em até 10 min. A partir desse momento, amostras de sangue (5mL) foram coletadas nos períodos 30, 60, 120 e 240 min (Figura 2). Tais períodos foram determinados conforme frequência de aferição descrita em estudos com avaliação pós-prandial (28, 56, 61). As participantes permaneceram sentadas durante todo o período de avaliação.

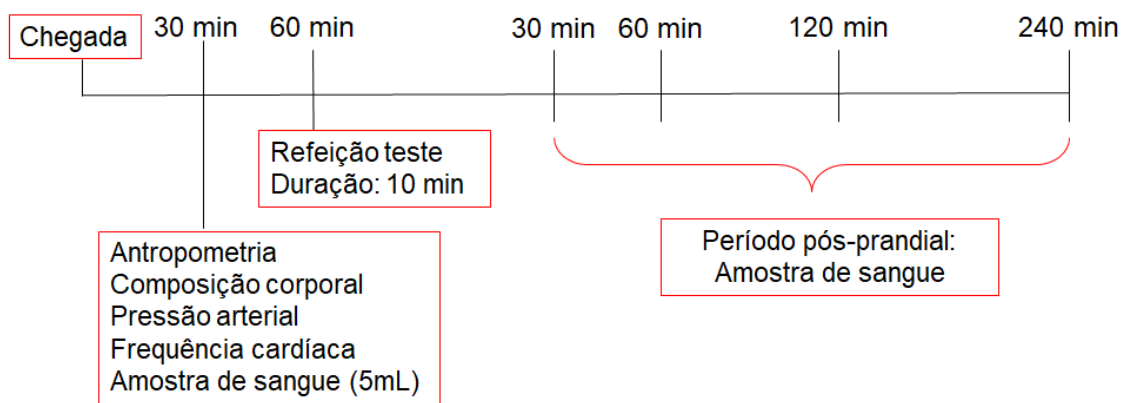


Figura 2: Detalhamento das intervenções.

- Características da dieta

As mulheres receberam café da manhã com alimentos convencionais (pão, presunto, margarina) acrescidos de 200 mL de bebida adoçada com um tipo de carboidrato refinado (ora sacarose, ora glicose e ora frutose) em cada intervenção de forma randômica. A refeição apresentava aporte energético balanceado, ou seja, 25% do gasto energético total (GET) calculado por meio do GER (aferido na avaliação inicial por calorimetria indireta) X nível de atividade física (IOM, 2002) mais 10% referentes ao efeito térmico dos alimentos ($GET = GER \times \text{nível de atividade física} + 10\%$). O café da manhã continha 15% de proteína, 30% de lipídio e 55% de carboidrato, dos quais 30% complexos e 25% oferecido como sacarose, frutose ou glicose. Os carboidratos

sacarose e glicose foram os controles alimentares e metabólicos, respectivamente, escolhidos para o estudo.

A quantidade de carboidrato refinado oferecida às participantes (18 a 25 gramas em uma única refeição) foi considerada como sobrecarga, uma vez que a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2015) recomenda que o consumo diário não ultrapasse 5% das calorias ingeridas por dia, em uma dieta saudável (62). A American Heart Association Nutrition Committee (2009) recomendou a mulheres adultas a ingestão de açúcar de adição inferior a 100 kcal / dia (25g/ dia) e para homens, consume menor que 150 kcal / dia (37,5 g/ dia). Além disso, vários estudos que investigaram o consumo de frutose em curto e longo período (≤ 3 semanas) nos marcadores metabólicos e inflamatórios ofertaram 25% do GET da refeição sob a forma de sacarose, glicose, frutose ou XMRF por dia (15, 16, 19, 25, 45, 63). Por outro lado, a quantidade oferecida destes carboidratos no presente estudo é rotina alimentar de muitos indivíduos (200mL de refrigerante comum contém 21 gramas de sacarose).

As bebidas foram preparadas com sabor artificial de fruta com uso de refresco em pó sem açúcar de forma que os pesquisadores nem os participantes sabiam do conteúdo da mesma.

- Exames bioquímicos

Houve a coleta de cinco amostras de sangue (5mL cada), a primeira em jejum e as quatro restantes no estado pós-prandial (30, 60, 120 e 240 min) após a ingestão de cada refeição teste. Todas as amostras foram centrifugadas para separação das alíquotas, sendo o soro transferido para microtubos e em seguida, armazenados em *freezer* à temperatura de -80°C . As amostras de soro armazenadas foram utilizadas para dosagem de mediadores metabólicos (glicose, triglicerídeos, colesterol total), função hepática (alanina amino transferase ALT e aspartato aminotransferase - AST) e inflamatórios como adipocinas (leptina, resistina e adiponectina), citocinas [fator de necrose tumoral (TNF), interferon gamma (IFN- γ), interleucinas (2, 4, 5, 6, 10 e 17A) e eotaxina].

As concentrações de glicose, TG, colesterol total, ALT e AST) foram obtidas por kits enzimáticos colorimétricos (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brazil). A determinação da concentração sérica de adiponectina, resistina, leptina e TNF ocorreu por meio de Elisa

(Enzyme Linked Immune Sorbent Assay). Os kits usados foram Duoset da R&D Systems® (kits DY1065, DY1359 and DY398) e Human TNF-alpha Quantikine HS R&D Systems® (kit SSTA00D). Concentrações de INF γ , interleucinas IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17A and eotaxina foram obtidas pelo método Cytometric Bead Array (CBA) (BD Bioscience, San Diego, CA, USA) em citometria de fluxo. Os testes seguiram as instruções dos fabricantes.

4.5 Análise estatística

Somente os dados das participantes que completaram os três protocolos de estudo (n= 22) foram incluídos nas análises estatísticas quanto ao perfil metabólico e inflamatório (adipocinas e TNF). Em uma subamostra, constituída pelas primeiras 13 mulheres que completaram o estudo, as concentrações séricas de IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17 e eotaxina foram investigadas no período pós-prandial.

Os dados foram analisados nos programas *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 20 e *GraphPad Prism* versão 5.0. As variáveis quantitativas foram apresentadas como média \pm erro padrão (EP). O teste Shapiro-Wilk verificou a normalidade das variáveis quantitativas. Os testes t *Student* Simple e Mann-Whitney permitiram as comparações entre as características iniciais de quem concluiu ou não o estudo e daquelas incluídas ou não na subamostra. Para comparar as características antropométricas, clínicas, metabólicas e inflamatórias no início de cada fase do estudo (jejum) das intervenções, optou-se pelo uso do teste ANOVA para medidas repetidas 1-fator (refeição teste) para variáveis com distribuição normal ou Kruskal-Wallis para as não normais seguidos do pós-teste de Bonferroni. Para as comparações pós-prandiais entre as refeições contendo diferentes tipos de carboidratos, o método escolhido foi o Modelo de Equações de Estimativas Generalizadas (GEE). O GEE permite avaliar o efeito da alocação na refeição teste (grupo) com ajuste do efeito do tempo (interação). As variáveis foram tratadas com a função gama de conexão. A matriz de correlação de trabalho utilizada foi a matriz de covariância de estimador não estruturada e robusta. O pós-teste de Bonferroni identificou a presença de efeitos significativos. O nível de significância utilizado foi de 0,05.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Emerson SR, Kurti SP, Harms CA, Haub MD, Melgarejo T, Logan C, et al. Magnitude and Timing of the Postprandial Inflammatory Response to a High-Fat Meal in Healthy Adults: A Systematic Review. *Adv Nutr.* 2017;8(2):213-25.
2. Milan AM, Pundir S, Pileggi CA, Markworth JF, Lewandowski PA, Cameron-Smith D. Comparisons of the Postprandial Inflammatory and Endotoxaemic Responses to Mixed Meals in Young and Older Individuals: A Randomised Trial. *Nutrients.* 2017;9(4).
3. Pears AD, Rankin JW, Lee YW. Effects of acute ingestion of different fats on oxidative stress and inflammation in overweight and obese adults. *Nutr J.* 2011;10:122.
4. Dekker MJ, Wright AJ, Mazurak VC, Marangoni AG, Rush JW, Graham TE, et al. Fasting triacylglycerol status, but not polyunsaturated/saturated fatty acid ratio, influences the postprandial response to a series of oral fat tolerance tests. *J Nutr Biochem.* 2009;20(9):694-704.
5. Parks EJ. Changes in fat synthesis influenced by dietary macronutrient content. *Proc Nutr Soc.* 2002;61(2):281-6.
6. Tulk HM, Robinson LE. Modifying the n-6/n-3 polyunsaturated fatty acid ratio of a high-saturated fat challenge does not acutely attenuate postprandial changes in inflammatory markers in men with metabolic syndrome. *Metabolism.* 2009;58(12):1709-16.
7. Peluso I, Raguzzini A, Villano DV, Cesqui E, Toti E, Catasta G, et al. High fat meal increase of IL-17 is prevented by ingestion of fruit juice drink in healthy overweight subjects. *Curr Pharm Des.* 2012;18(1):85-90.
8. Herieka M, Erridge C. High-fat meal induced postprandial inflammation. *Mol Nutr Food Res.* 2014;58(1):136-46.
9. Angelopoulos TJ, Lowndes J, Sinnott S, Rippe JM. Fructose Containing Sugars at Normal Levels of Consumption Do Not Effect Adversely Components of the Metabolic Syndrome and Risk Factors for Cardiovascular Disease. *Nutrients.* 2016;8(4):179.

10. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Sabuncu T, Sentürk H. Fructose as a key player in the development of fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2013;19(8):1166-72.
11. Bray GA. Potential health risks from beverages containing fructose found in sugar or high-fructose corn syrup. *Diabetes Care.* 2013;36(1):11-2.
12. Nomura K, Yamanouchi T. The role of fructose-enriched diets in mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem.* 2012;23(3):203-8.
13. Zhang DM, Jiao RQ, Kong LD. High Dietary Fructose: Direct or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Functions. *Nutrients.* 2017;9(4).
14. Bidwell AJ. Chronic Fructose Ingestion as a Major Health Concern: Is a Sedentary Lifestyle Making It Worse? A Review. *Nutrients.* 2017;9(6).
15. Stanhope KL, Havel PJ. Fructose consumption: considerations for future research on its effects on adipose distribution, lipid metabolism, and insulin sensitivity in humans. *J Nutr.* 2009;139(6):1236S-41S.
16. Stanhope KL, Bremer AA, Medici V, Nakajima K, Ito Y, Nakano T, et al. Consumption of fructose and high fructose corn syrup increase postprandial triglycerides, LDL-cholesterol, and apolipoprotein-B in young men and women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(10):E1596-605.
17. Aeberli I, Hochuli M, Gerber PA, Sze L, Murer SB, Tappy L, et al. Moderate amounts of fructose consumption impair insulin sensitivity in healthy young men: a randomized controlled trial. *Diabetes Care.* 2013;36(1):150-6.
18. Stanhope KL, Schwarz JM, Havel PJ. Adverse metabolic effects of dietary fructose: results from the recent epidemiological, clinical, and mechanistic studies. *Curr Opin Lipidol.* 2013;24(3):198-206.
19. Stanhope KL, Medici V, Bremer AA, Lee V, Lam HD, Nunez MV, et al. A dose-response study of consuming high-fructose corn syrup-sweetened beverages on lipid/lipoprotein risk factors for cardiovascular disease in young adults. *Am J Clin Nutr.* 2015;101(6):1144-54.

20. Aeberli I, Gerber PA, Hochuli M, Kohler S, Haile SR, Gouni-Berthold I, et al. Low to moderate sugar-sweetened beverage consumption impairs glucose and lipid metabolism and promotes inflammation in healthy young men: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(2):479-85.
21. Rezvani R, Cianflone K, McGahan JP, Berglund L, Bremer AA, Keim NL, et al. Effects of sugar-sweetened beverages on plasma acylation stimulating protein, leptin and adiponectin: relationships with metabolic outcomes. *Obesity (Silver Spring).* 2013;21(12):2471-80.
22. Heden TD, Liu Y, Park YM, Nyhoff LM, Winn NC, Kanaley JA. Moderate amounts of fructose- or glucose-sweetened beverages do not differentially alter metabolic health in male and female adolescents. *Am J Clin Nutr.* 2014;100(3):796-805.
23. Cox CL, Stanhope KL, Schwarz JM, Graham JL, Hatcher B, Griffen SC, et al. Circulating concentrations of monocyte chemoattractant protein-1, plasminogen activator inhibitor-1, and soluble leukocyte adhesion molecule-1 in overweight/obese men and women consuming fructose- or glucose-sweetened beverages for 10 weeks. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(12):E2034-8.
24. Teff KL, Elliott SS, Tschöp M, Kieffer TJ, Rader D, Heiman M, et al. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2963-72.
25. Teff KL, Grudziak J, Townsend RR, Dunn TN, Grant RW, Adams SH, et al. Endocrine and metabolic effects of consuming fructose- and glucose-sweetened beverages with meals in obese men and women: influence of insulin resistance on plasma triglyceride responses. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(5):1562-9.
26. Yau AM, McLaughlin J, Maughan RJ, Gilmore W, Evans GH. The Effect of Short-Term Dietary Fructose Supplementation on Gastric Emptying Rate and Gastrointestinal Hormone Responses in Healthy Men. *Nutrients.* 2017;9(3).
27. Gallagher C, Keogh JB, Pedersen E, Clifton PM. Fructose acute effects on glucose, insulin, and triglyceride after a solid meal compared with sucralose and sucrose in a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr.* 2016;103(6):1453-7.
28. Jameel F, Phang M, Wood LG, Garg ML. Acute effects of feeding fructose, glucose and sucrose on blood lipid levels and systemic inflammation. *Lipids Health Dis.* 2014;13:195.

29. Theytaz F, de Giorgi S, Hodson L, Stefanoni N, Rey V, Schneiter P, et al. Metabolic fate of fructose ingested with and without glucose in a mixed meal. *Nutrients*. 2014;6(7):2632-49.
30. Smeraglio AC, Kennedy EK, Horgan A, Purnell JQ, Gillingham MB. Change in postprandial substrate oxidation after a high-fructose meal is related to body mass index in healthy men. *Nutr Res*. 2013;33(6):435-41.
31. Rodrigues DF, Henriques MC, Oliveira MC, Menezes-Garcia Z, Marques PE, Souza DaG, et al. Acute intake of a high-fructose diet alters the balance of adipokine concentrations and induces neutrophil influx in the liver. *J Nutr Biochem*. 2014;25(4):388-94.
32. Tappy L, Lê KA, Tran C, Paquot N. Fructose and metabolic diseases: new findings, new questions. *Nutrition*. 2010;26(11-12):1044-9.
33. Le MT, Frye RF, Rivard CJ, Cheng J, McFann KK, Segal MS, et al. Effects of high-fructose corn syrup and sucrose on the pharmacokinetics of fructose and acute metabolic and hemodynamic responses in healthy subjects. *Metabolism*. 2012;61(5):641-51.
34. Bizeau ME, Pagliassotti MJ. Hepatic adaptations to sucrose and fructose. *Metabolism*. 2005;54(9):1189-201.
35. Swarbrick MM, Stanhope KL, Elliott SS, Graham JL, Krauss RM, Christiansen MP, et al. Consumption of fructose-sweetened beverages for 10 weeks increases postprandial triacylglycerol and apolipoprotein-B concentrations in overweight and obese women. *Br J Nutr*. 2008;100(5):947-52.
36. Calder PC, Ahluwalia N, Albers R, Bosco N, Bourdet-Sicard R, Haller D, et al. A consideration of biomarkers to be used for evaluation of inflammation in human nutritional studies. *Br J Nutr*. 2013;109 Suppl 1:S1-34.
37. Galland L. Diet and inflammation. *Nutr Clin Pract*. 2010;25(6):634-40.
38. Calder PC, Ahluwalia N, Brouns F, Buetler T, Clement K, Cunningham K, et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *Br J Nutr*. 2011;106 Suppl 3:S5-78.

39. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol.* 2011;29:415-45.
40. Burdge GC, Calder PC. Plasma cytokine response during the postprandial period: a potential causal process in vascular disease? *Br J Nutr.* 2005;93(1):3-9.
41. Benetti E, Mastrocola R, Rogazzo M, Chiazza F, Aragno M, Fantozzi R, et al. High sugar intake and development of skeletal muscle insulin resistance and inflammation in mice: a protective role for PPAR- δ agonism. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:509502.
42. Collino M, Benetti E, Rogazzo M, Mastrocola R, Yaqoob MM, Aragno M, et al. Reversal of the deleterious effects of chronic dietary HFCS-55 intake by PPAR- δ agonism correlates with impaired NLRP3 inflammasome activation. *Biochem Pharmacol.* 2013;85(2):257-64.
43. Hu QH, Zhang X, Pan Y, Li YC, Kong LD. Allopurinol, quercetin and rutin ameliorate renal NLRP3 inflammasome activation and lipid accumulation in fructose-fed rats. *Biochem Pharmacol.* 2012;84(1):113-25.
44. Kanuri G, Spruss A, Wagnerberger S, Bischoff SC, Bergheim I. Role of tumor necrosis factor α (TNF α) in the onset of fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice. *J Nutr Biochem.* 2011;22(6):527-34.
45. Stanhope KL, Griffen SC, Bremer AA, Vink RG, Schaefer EJ, Nakajima K, et al. Metabolic responses to prolonged consumption of glucose- and fructose-sweetened beverages are not associated with postprandial or 24-h glucose and insulin excursions. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(1):112-9.
46. Mah E, Noh SK, Ballard KD, Matos ME, Volek JS, Bruno RS. Postprandial hyperglycemia impairs vascular endothelial function in healthy men by inducing lipid peroxidation and increasing asymmetric dimethylarginine:arginine. *J Nutr.* 2011;141(11):1961-8.
47. Cox CL, Stanhope KL, Schwarz JM, Graham JL, Hatcher B, Griffen SC, et al. Consumption of fructose- but not glucose-sweetened beverages for 10 weeks increases circulating concentrations of uric acid, retinol binding protein-4, and gamma-glutamyl transferase activity in overweight/obese humans. *Nutr Metab (Lond).* 2012;9(1):68.
48. Stanhope KL, Griffen SC, Bair BR, Swarbrick MM, Keim NL, Havel PJ. Twenty-four-hour endocrine and metabolic profiles following consumption of high-

fructose corn syrup-, sucrose-, fructose-, and glucose-sweetened beverages with meals. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(5):1194-203.

49. Burton-Freeman B. Postprandial metabolic events and fruit-derived phenolics: a review of the science. *Br J Nutr.* 2010;104 Suppl 3:S1-14.

50. Blackburn P, Després JP, Lamarche B, Tremblay A, Bergeron J, Lemieux I, et al. Postprandial variations of plasma inflammatory markers in abdominally obese men. *Obesity (Silver Spring).* 2006;14(10):1747-54.

51. Poppitt SD, Keogh GF, Lithander FE, Wang Y, Mulvey TB, Chan YK, et al. Postprandial response of adiponectin, interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, and C-reactive protein to a high-fat dietary load. *Nutrition.* 2008;24(4):322-9.

52. Poppitt SD, Leahy FE, Keogh GF, Wang Y, Mulvey TB, Stojkovic M, et al. Effect of high-fat meals and fatty acid saturation on postprandial levels of the hormones ghrelin and leptin in healthy men. *Eur J Clin Nutr.* 2006;60(1):77-84.

53. Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation.* 2002;106(16):2067-72.

54. Manning PJ, Sutherland WH, Walker RJ, de Jong SA, Berry EA. The effect of glucose ingestion on inflammation and oxidative stress in obese individuals. *Metabolism.* 2008;57(10):1345-9.

55. Dhindsa S, Tripathy D, Mohanty P, Ghanim H, Syed T, Aljada A, et al. Differential effects of glucose and alcohol on reactive oxygen species generation and intranuclear nuclear factor-kappaB in mononuclear cells. *Metabolism.* 2004;53(3):330-4.

56. Parks EJ, Skokan LE, Timlin MT, Dingfelder CS. Dietary sugars stimulate fatty acid synthesis in adults. *J Nutr.* 2008;138(6):1039-46.

57. Chong MF, Fielding BA, Frayn KN. Mechanisms for the acute effect of fructose on postprandial lipemia. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(6):1511-20.

58. Hulley SB, Cummings SR, Browner WB, MD. *Designing clinical research.* . Fourth ed 2001. 367 p.

59. Organization. W-WH. Waist circumference and waist-hip ratio. Report of a WHO expert consultation. Geneva.2011. p. 39p.
60. Board. IOMFaN. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients). . 2002.
61. Lambert JE, Parks EJ. Postprandial metabolism of meal triglyceride in humans. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1821(5):721-6.
62. Health W, Organization, 2015. Guideline: sugars intake for adults and children.2015:[1-59 pp.].
63. Kuzma JN, Cromer G, Hagman DK, Breymeyer KL, Roth CL, Foster-Schubert KE, et al. No differential effect of beverages sweetened with fructose, high-fructose corn syrup, or glucose on systemic or adipose tissue inflammation in normal-weight to obese adults: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2016;104(2):306-14.

5 RESULTADOS

Capítulo 1: Artigo Original

High fructose intake changes acutely serum triglyceride and leukocytes count in normal weight women: double blind, randomized crossover study.

Ana M. dos S. Rodrigues,¹ Laís B. Martins,¹ Matheus H. A. Amaral¹, Gabriela B. P. Fagundes¹, Maria Isabel. T. D. Correia², Adaliene V. M. Ferreira^{1*}

¹Department of Nutrition, Nursing School, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

²Department of Surgery, Medicine School, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Postal address of affiliation: Universidade Federal de Minas Gerais Av, Alfredo Balena, 190, 30130-100, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Running title: Dietary fructose overload at postprandial period.

* Correspondence should be addressed to Adaliene V. M. Ferreira, Avenida Alfredo Balena, 190, 30130-100, Departamento de Nutrição, Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Tel: +55-31-3409-8036

Fax: +55-31-3409-9853

E-mail: adaliene@gmail.com

Keywords: Fructose, Postprandial Period, Inflammation, Metabolism.

ABSTRACT

Fructose consumption is associated with the development of metabolic diseases related to low-grade. However, the acute effect of dietary fructose on the metabolic and inflammatory response is not well known. Objective: To investigate whether the acute consumption of a standard diet containing a fructose overload interferes with postprandial metabolic and inflammatory response. This was a randomized crossover double-blinded design study with 22 healthy women (mean of BMI 21.1 ± 0.4 kg / m² and age 27.4 ± 1.3 years). Each participant received a mixed meal (25% from the total daily energy expenditure) containing usual foods plus a beverage sweetened with sucrose or glucose or fructose. Blood samples were collected in the fasted and postprandial (30, 60, 120 and 240 min) periods. Glycaemia increased 30 min after meal consumption containing sucrose and glucose overload. No changes in glycaemia were observed after the fructose overload meal. Serum triglycerides increased 240 min after the fructose. The fructose overload meal induced an increase in the total blood leukocytes. Serum leptin levels (30, 60, 120 and 240 min) were reduced in relation to baseline, regardless of the type of the carbohydrate overload. There was no statistical difference in the postprandial levels of cholesterol, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, adiponectin, resistin, tumor necrosis factor and interferon gamma e interleukins (2, 4, 5, 6, 10,17) following the carbohydrate overload. Meal with fructose overload promoted acutely increased serum triglycerides and leukocytes, which may be aggravated by subsequent meals and increase the risk factors for metabolic diseases.

Keywords: Fructose, Postprandial Period, Inflammation, Metabolism.

1. INTRODUCTION

The consumption of high refined carbohydrate diet, mainly glucose and fructose has been associated with the increasing prevalence of obesity and metabolic diseases (1-3). Indeed, the deleterious effects of fructose are attributed to the different metabolism from that observed with glucose (4). Hepatic uptake and oxidation of fructose are independent of insulin and cellular energy status, respectively (2, 3, 5). Thus, such differences may lead to a higher lipemia induced by fructose through *de novo* lipogenesis (LDN) accompanied by insulin resistance (5-7). Hyperuricemia, insulin resistance, inflammation and hormonal changes are also associated with high fructose consumption (5, 8, 9).

Obesity and metabolic dysfunction are characterized by the presence of a chronic low-grade inflammation (10). Such inflammation can be due to the exacerbated adipose tissue expansion caused by a chronic overload of nutrients (11). However, the effects of the diet on low-grade inflammation may not be limited to a chronic food intake. In the last decade, several studies have shown that the consumption of a single meal with different nutrients may trigger an inflammatory response (10, 12-14). It may suggest an early risk factors for the development of metabolic diseases (15, 16).

A single meal rich in fat or with different proportions of fatty acids induce the increase of tumor necrosis factor (TNF), interleukin-6 (IL-6), interleukin-17, and C-reactive protein (CRP) at the postprandial period in individuals of both sexes and varied body mass index (BMI) (12, 13, 17). Indeed, by using experimental models, we have showed that mice fed a balanced meal containing fructose have an intensification of the postprandial inflammatory response through the increase of circulating leukocytes, lower serum concentration of adiponectin and increase of TNF and IL-6 in the liver and adipose tissue (18). However, the investigation of acute postprandial inflammatory response following a diet rich in fructose in humans is still little explored and inconclusive (19-22). Therefore, the aim of the present study was to investigate the metabolic and inflammatory effect of a standard meal containing an overload of fructose in healthy woman.

2. MATERIALS AND METHODS

This is a randomized, single-blinded, controlled crossover clinical trial performed at the Alpha Institute of Gastroenterology of the Hospital das Clínicas (Belo Horizonte, MG, Brazil). The research was approved by the Research Ethics Committee of the Universidade Federal de Minas Gerais (CAAE: 21852314.7.0000.5149) and it was registered at the Clinical Trial Registry Platform (NCT02570633). All volunteers signed the informed consent statement prior to the start of the study.

2.1 Subjects

Women aged between 20 and 47 years, BMI from 18.90 to 24.99 kg/m² were recruited. Exclusion criteria included: (i) chronic diseases such as diabetes mellitus (DM), chronic renal failure (CRF), arterial hypertension, heart or liver disease, inflammatory or autoimmune disease, (ii) glycemia > 99 mg / dL, (iii) triglycerides > 200 mg / dL, (iv) blood pressure > 140 X 90 mg / dL, (v) prior surgery for weight loss, (vi) people in use of medication for thyroid alterations, dyslipidemia, insulin sensitivity or DM, CRF, arterial hypertension, cardiac and hepatic disease, inflammation and / or infection, immunosuppressive and weight loss, (vii) smokers or drinking alcohol (> 2 doses / day), and (ix) pregnancy or breast-feeding.

The sample size of 17 subjects considered to include number of individuals to detect a difference of at least 11 mg / dL in the concentrations of triglycerides (15), 1.2 ng / mL in adiponectin concentrations (21) and 1.9 pg / mL in TNF concentrations (pilot study) before and after ingestion of fructose overload based on a 95% confidence level and statistical power of the 80% (23). We also took into account the average 8% of dropout rate described in a crossover study evaluating an acute intake of fructose (19).

2.2 Study design

Each participant attended the outpatient clinic three times with intervals of at least 7 days. Three different interventions were performed in which standardized meals were given to participants in random order (Figure 1). During the washout period, the subjects were instructed to maintain their usual food intake and physical activity. The

participants completed a 3-day food registry to evaluate the energy consumption between the interventions. The consumption of caffeine and alcoholic beverages and the performance of intense physical activity were contraindicated in the 24 h preceding each intervention.

On the day of each intervention, participants went to the outpatient unit in the morning after an overnight fast of 11 hours. Weight, height, waist circumference (lesser curvature located between ribs and hipbone), body composition (bioimpedance machine, Quantum® apparatus, RJM Systems, Michigan), blood pressure and heart rate (digital monitor, model HEM705CP®, Omrom) were measured after 30 min of rest. A catheter with a three-way stopcock was inserted into the arm of the volunteers and, the first blood samples (5mL) were collected in the fasted state (baseline), 30, 60, 120 and 240 min postprandial. Participants remained seated throughout the evaluation period.

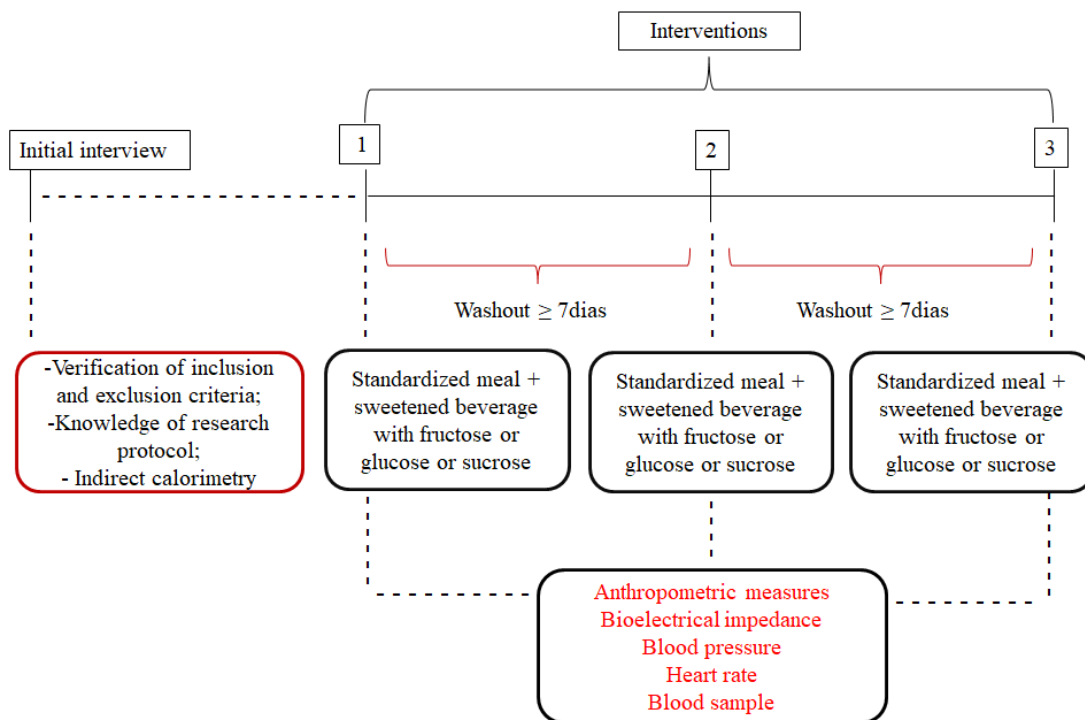


Figure 1: Experimental design

2.3 Diet Composition

The volunteers received a controlled meal consisting of bread, ham, margarine plus a sweetened drink (200mL) with similar amounts of different types of carbohydrate

(sucrose, glucose or fructose) in each intervention arm. All three meals provided 25% of the energy requirements, calculated from the resting energy expenditure measured by indirect calorimetry (KORR[®], MetaCheck) multiplied by the activity factor (IOM, 2002) plus 10% referring to the thermal effect of food (data not shown). The meal consisted of 15% de protein, 30% de fat e 55% de carbohydrate (30% complex and 25% offered either as sucrose or glucose or fructose). The drinks presented artificial fruit flavor to avoid the identification of the content by the researchers and volunteers.

2.4 Laboratory methods

Blood samples were centrifuged at 4000 X g for 10 min and were stored at -80°C until analysis. Serum glucose, triacylglycerol, total cholesterol, alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) levels were measured by colorimetric enzymatic kit (Bioclin[®], Belo Horizonte, MG, Brazil). Serum adiponectin, leptin, resistin and tumoral necrosis factor (TNF) were measured by ELISA (Enzyme Linked ImmuneSorbent Assay). The kits used for the quantification of adipokines were DuoSet da R&D Systems[®] (kits DY1065, DY1359 and DY398) and Human TNF-alpha Quantikine HS R&D Systems[®] (kit SSTA00D). Serum levels of the interferon gamma (INF γ), interleukins (IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17A) and eotaxin were obtained by the Cytometric Bead Array (CBA) method, (BD Bioscience, San Diego, CA, USA) in flow cytometry. Blood collected was diluted in Turk's solution. The number of total white blood cell was obtained using a Neubauer chamber ($\times 40$ objective).

2.6 Statistical Analyses

All quantitative variables were presented as mean \pm standard error (SEM). Normality of the quantitative variables was tested through the Shapiro-Wilk test. Student's t Simple and Mann-Whitney tests allowed comparisons between the initial characteristics of those who completed the study or not and between volunteers who participated or not in the sub-sample. To compare the anthropometric and clinical characteristics between baseline and the subsequent assessments, we used the ANOVA test for repeated measures 1-factor or Kruskal-Wallis according to the normality followed by post- Bonferroni test. Metabolic and inflammatory markers in the postprandial period were compared by the Generalized Equation of Estimates (GEE)

model to evaluate the effect of group allocation (carbohydrate type), adjusting for time effect (interaction). The variables were treated with the connection range function and the correlation matrix was the covariance of an unstructured and robust estimator. The Bonferroni post-test identified the presence of significant effects. The area under the curve (AUC) was calculated with the use of the trapezoidal method to metabolic markers. Significance was set at $P < 0.05$. The data were analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software version 20 and *GraphPad Prism* version 5.0.

3. RESULTS

Thirty-two (32) women were recruited. Of these, 25 had the inclusion criteria and were randomized to participate in the study. Three women (two due to hypotension and one due to discomfort during venipuncture) did not complete the first intervention protocol. There was no statistical differences in mean of age (27.4 ± 1.3 years vs. 27.2 ± 1.4 years, $p = 0.572$) and BMI (21.1 ± 0.4 vs. 21.2 ± 0.5 kg / m², $p = 0.456$) among subjects who completed the study ($n = 22$) and those excluded ($n = 3$). Figure 2 represents the flowchart of the study participants.

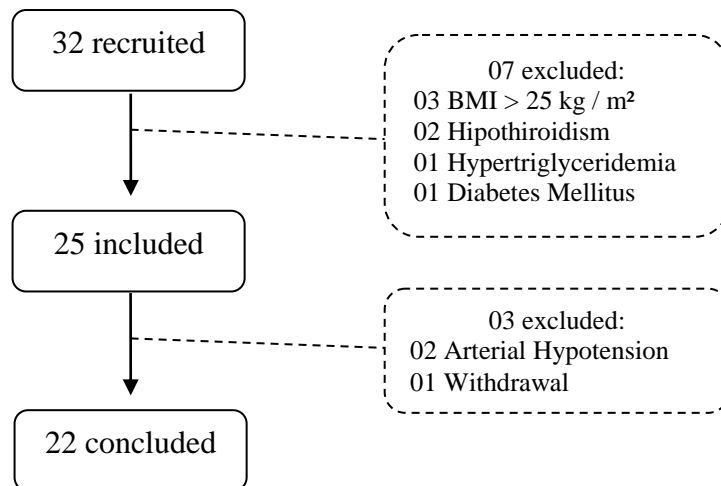


Figure 2: Flowchart of the volunteers involved in the study.
Legend: BMI - Body mass index.

The final sample included 22 women with 27.4 ± 1.2 years old and 56.6 ± 1.2 kg. There was no significant difference at the baseline concerning anthropometric, body composition and health characteristics during the three interventions phases (TABLE 1). Dietary analysis verified average energy consumption was similar to the calculated total energy expenditure demonstrating that the caloric content of each experimental breakfast meal was correctly estimated (data not shown).

Table 1. Characteristics of the participants before the each meal with different types of carbohydrate.

Characteristics	Sucrose	Glucose	Fructose	<i>P</i>
Weight (kg) ^a	56.7 ± 1.1	56.5 ± 1.2	56.6 ± 1.2	0.673
Body mass index (kg/m ²) ^a	21.2 ± 0.4	21.1 ± 0.4	21.1 ± 0.4	0.582
Waist Circumference (cm) ^a	76.5 ± 1.3	75.8 ± 1.3	75.7 ± 1.4	0.336
Hip Waist Ratio ^a	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.408
Body fat (%) ^b	30.5 ± 2.2	29.5 ± 1.7	29.3 ± 1.7	0.448
Systolic Blood Pressure (mmHg) ^a	106.4 ± 1.8	105.8 ± 2.3	108.6 ± 2.0	0.069
Diastolic Blood Pressure (mmHg) ^b	67.1 ± 1.8	68.9 ± 2.3	68.5 ± 1.5	0.393
Heart Rate (bpm) ^a	76.1 ± 1.6	79.2 ± 2.4	75.0 ± 1.8	0.087

Values: mean \pm standard error (SEM). n = 22

Statistical test: ^a ANOVA of repeated measurements 1-factor; ^b Kruskal Wallis.

Regarding metabolic response, the postprandial glycaemia increased 30 min following sucrose ($P = 0.045$) and glucose ($P < 0.001$) overload and returned to baseline at 60 min postprandial. Serum glucose levels were higher 30 min after glucose intake ($P = 0.032$) compared with a meal containing sucrose or fructose overload. (Figure 3A). Triglycerides levels increased 240 min postprandial ($P = 0.043$) (Figure 3C - D).

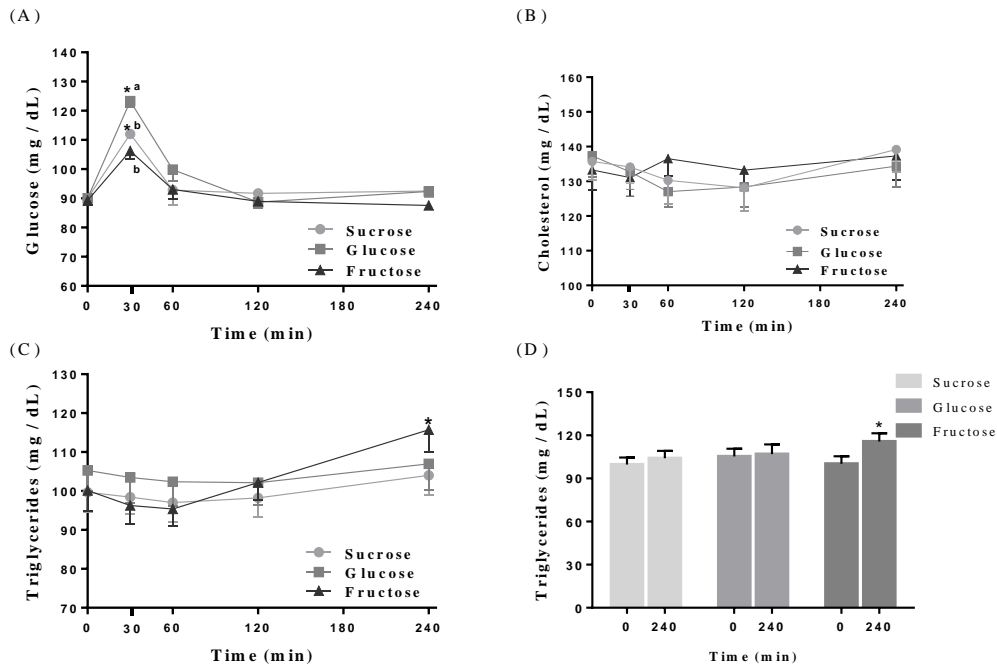


Figure 3: Changes in the levels of glucose (A), cholesterol (B) and triglycerides (C-D) following a meal containing an overload of glucose, fructose or sucrose.

Values are mean \pm SEM. $n = 22$.

Test: Model of Generalized Estimates (GEE) followed by Bonferroni post-test. * Different from baseline, $P < 0.05$. Values without a common superscript are significantly different; $P < 0.05$.

The levels of AST and ALT were similar at baseline between the three groups and did not change at the different times ($P = 0.342$), or between groups ($P = 0.523$) or in interaction (groups and time) ($P = 0.126$) following a meal containing an overload of glucose, fructose or sucrose (data not show).

To evaluate markers of systemic inflammation in the postprandial state, we assessed the serum levels of adiponectin, leptin, resistin, TNF and the total number of blood leukocytes. The levels of all markers was similar at the basal phase. Adiponectin levels did not change following a meal containing an overload of glucose, fructose or sucrose (Figure 4A). Leptin levels decreased following a meal regardless the diet composition (sucrose $P = 0.024$; glucose $P = 0.016$; fructose $P = 0.031$) (Figure 4B). The levels of resistin and TNF were constant throughout the postprandial period independently of the carbohydrate type intake (Figure 4C and 4D). However, the

amount of total leukocytes increased 240 min after the intake of the fructose overload meal ($P = 0.036$) (Figure 4E e 4F).

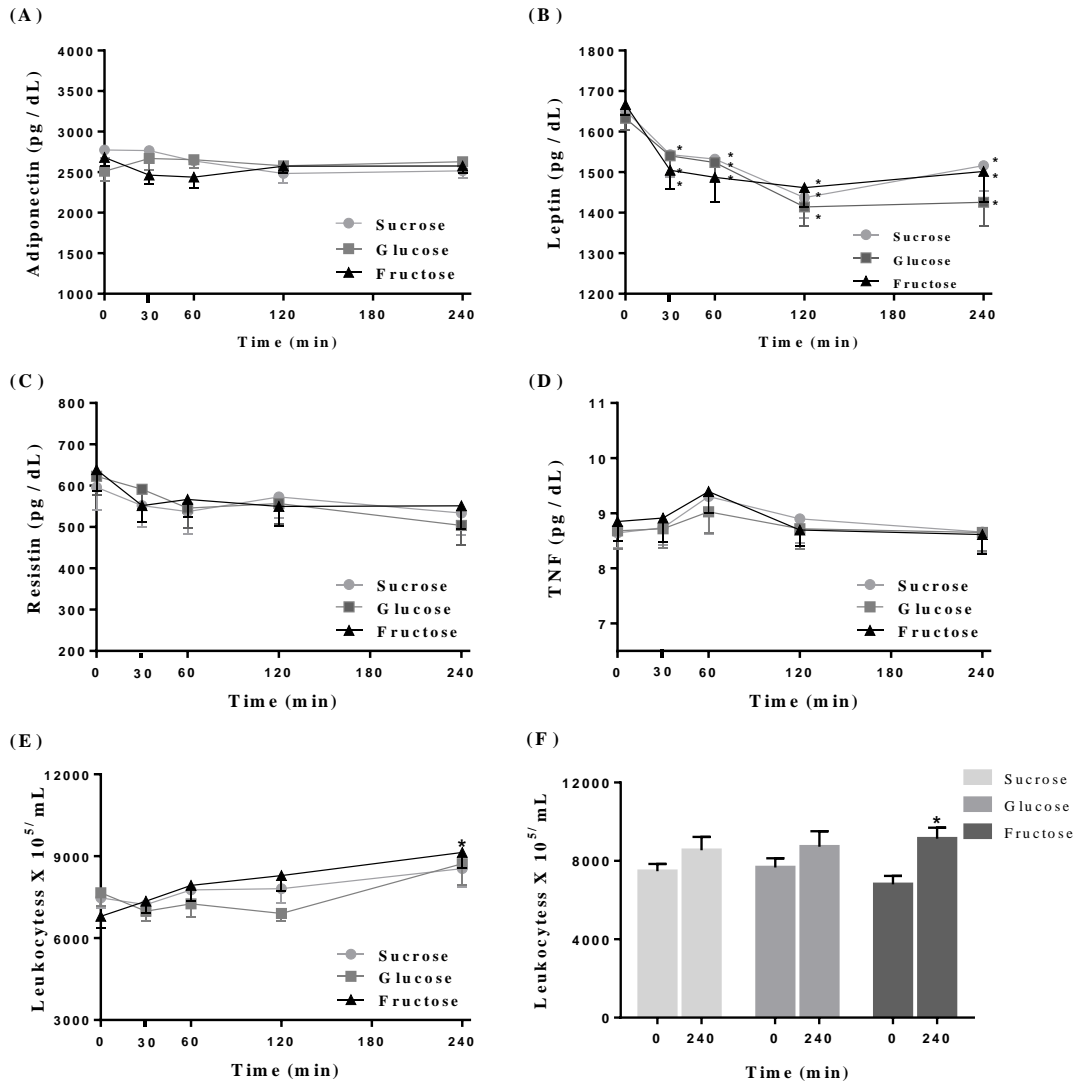


Figure 4: Inflammatory markers following a meal containing an overload of glucose, fructose or sucrose. Levels of adiponectin (A), leptin (B), resistin (C), TNF (D) and total leukocyte counts (E-F).

Values are mean ± SEM. n = 22

Test Generalized Estimating Equation (GEE) Model followed by by Bonferroni post-test. * Different from baseline, $P < 0.05$.

Complementary analysis to broaden the investigation of the serum postprandial inflammatory markers was carried out. Figure 5 shows the postprandial evolution of

serum levels IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17 and eotaxin. Serum levels were similar before any meal.

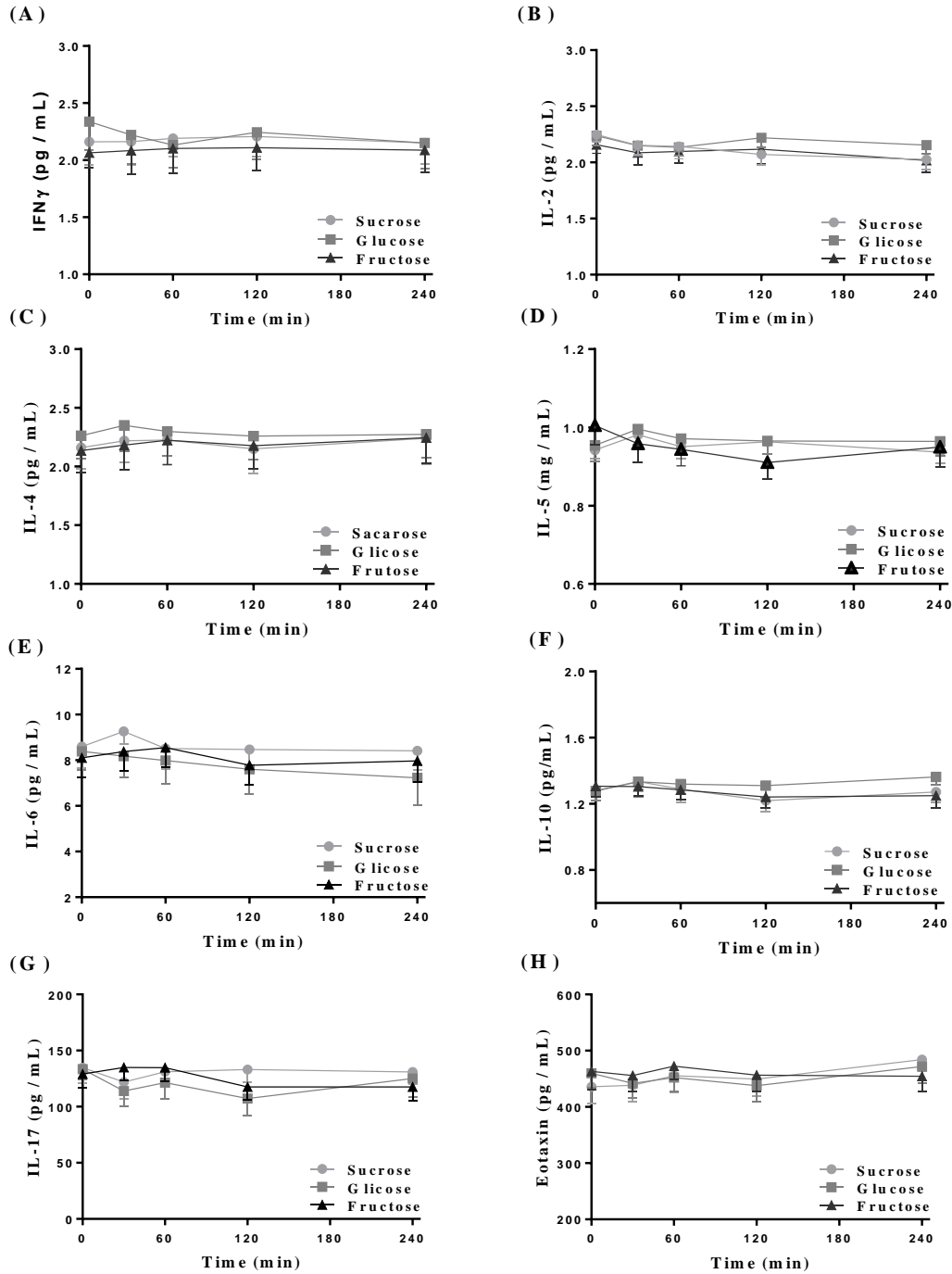


Figure 5: Markers of systemic inflammation following a meal containing glucose, fructose or sucrose overload. Levels of IFN γ (A), IL-2 (B), IL-4 (C), IL-5 (D), IL-6 (E), IL-10 (F), IL-17 (G), Eotaxin (H).

Values are mean \pm SEM. n = 13.

Test Generalized Estimating Equation (GEE) Model followed by by Bonferroni post-test.

4. DISCUSSION

The prevalence of obesity and metabolic diseases has increased in recent decades and the effects of diet as a risk factor seem not to be only limited to chronic high food overload intake (10, 12, 24). Thus, it becomes important to identify dietary components capable of altering acute metabolic and inflammatory postprandial homeostasis (5, 18). In this context, the present study had the following findings: (i) serum levels TG increased after the ingestion of a standard meal containing fructose overload; (ii) a standard meal with fructose overload induced an increase in the amount of circulating leukocytes; (iii) the ingestion of sucrose and glucose did not alter the investigated postprandial metabolic and inflammatory markers.

Several mechanisms have been suggested to explain the higher lipemia induced by the excess of fructose intake. Among them, *de novo* lipogenesis has been the main pathway which increases hepatic lipids and the very low density lipoprotein (VLDL) production and secretion induced by fructose. Other pathways include the lower lipoprotein lipase (LPL) activity, due to lower post-meal insulin responses, and competition between VLDL and chylomicron for LPL binding sites (5, 8). Moreover, fructose increases acetyl-CoA levels in the liver, leading to increased production of malonyl CoA, which inhibits the entry of fatty acids into the mitochondria and inhibits fatty acid oxidation indirectly (4, 5). Accordingly, herein we have showed that a meal containing an overload of fructose increase TG serum levels in healthy women. Previous studies did not report high TG levels after the intake of a fructose sweetened beverage for up to 120 min (20, 25). Indeed, we were able to show an increment of TG levels only after 240 min postprandial, showing that a short time postprandial period is insufficient to detect any changes in TG levels induced by an overload of fructose. Indeed, the peak of TG usually occurs 180 to 240 min after the beginning of a meal (26, 27). Interestingly, dietary fructose seems to redouble the content of TG rich lipoprotein levels after the acute intake of glucose or fat bolus (27, 28). Thus, an interaction of different nutrients may alter the lipid metabolism (27) and determine a distinct physiological response following a meal.

The acute effect of a nutrient overload is quite significant since there is an intensification of metabolic modifications after subsequent meals throughout the day (16, 29). For example, the consumption of a subsequent meal causes a higher chylomicron-TG concentrations, which occurs following the first meal, even if the meals are identical (26). Thus, the higher serum TG levels showed by women eaten an overload of fructose might be intensified by the next meal and thus, at the end of the day, shows a more significant changes in TG levels (26). Thus, it is possible that a regular and prolonged intake of fructose may cause deleterious effects on health, as previously proposed (16).

In the last decade, a growing body of evidence has shown that even after a balanced meal there is systemic and tissue-specific immune response that may be disrupted upon a chronic intake of an overload of nutrients triggering metabolic dysfunction (4, 10, 30). Herein, in healthy women, we have showed that leptin levels decreased following a meal, regardless the diet composition. Additionally, the levels of adiponectin and resistin did not change following a meal containing an overload of glucose, sucrose or fructose. Our data confirm the results of Smeraglio et al that did not showed postprandial differences in leptin levels between 12 healthy men with BMI < 30 kg / m² who were fed with a fructose or a glucose overload (22). However, Teff et al (2009; 2004) observed reduction of AUC of leptin for 24 hours, after the ingestion of three mixed nutrient meals with fructose-sweetened beverages in obese individuals (BMI > 30 kg/ m²) and normal weight women, respectively (31, 32). The total amount of fructose ingested and the time of evaluation may be responsible for AUC reduction.

In humans, adiponectin levels change little (~ 20%) over 24 hours (Gavrila et al, 2003). However, the acute effect of a meal upon adiponectin levels is little explored. In a previous classic model study of postprandial inflammation induction (10), the levels of adiponectin did not change in response to the a lipid bolus with different types of fatty acids (32). Similarly, the levels adiponectin were constant after an acute ingestion of bolus of glucose (100: 0) or glucose with fructose (50:50 and 25:75) (28). However, in a context of a chronic consumption of fructose, adiponectin levels were reduced under fasting. Thus, the effect of the fructose over adiponectin levels seems to be related to its chronic effects that changes body weight, adiposity and sensitivity to insulin (4, 23).

Postprandial inflammation is characterized by modest and transient elevation of systemic pro-inflammatory markers and therefore, it may be difficult to measure (33). In this context, the present study evaluated a milieu of inflammatory markers. There was no significant change in serum levels of TNF, IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17 and eotaxina following the acute intake of a meal containing an overload of glucose, sucrose or fructose. This type of analysis is recommended for the diagnosis of inflammation associated with nutrients or eating patterns (34). Akin to what we found, Mah et al (2010) showed that a bolus of fructose (75g) did not change the postprandial levels of IL-6, IL-10, TNF, myeloperoxidase enzyme, E-selectin and C-reactive protein (CRP) in overweight men when compared with a bolus of glucose (35). Thus, the acute intake of fructose seems do not change circulating cytokines.

To better characterize the inflammatory response following the acute intake of carbohydrates we count the number of circulating leukocytes. We observed an increase of leukocyte counts after the fructose intake. The accumulation of leukocytes, mainly neutrophils and monocyte-derived cells, is an important feature of the inflammatory reaction. Emerson et al (2017) recommend the evaluation of leukocyte-bound markers in the research investigating inflammation since this marker may be more likely to indicate postprandial changes than TNF or CRP (10). More importantly, previous human studies evaluating acute or chronic intake of fructose did not include white cells as an inflammatory marker (6, 20, 22, 25, 31, 32, 35-38). On the other hand, the early and long-term increase in the number of circulating leukocytes following the acute ingestion of fructose overload occurred in our previous study performed in mice. Indeed, the high-fructose diet stimulated neutrophil accumulation in the liver sinusoids (18). Thus, those data highlight the importance of white blood cells as an putative pro-inflammatory markers to be analyze at postprandial state.

In the present study we aimed to minimize variation between subjects and standardize diet composition in order to unveil the effect of a fructose overload in healthy women. Thus, the subjects had similar age, anthropometric profile, body composition, level of physical activity, and were instructed do not to perform intense acute exercise before the interventions. Additionally, the crossover design was the major strength of our study, because it allowed us to avoid the interpersonal variations concerning the metabolic and inflammatory response. Another important point was the

provision of a standardized and isocaloric meal, avoiding the bias associated with the hypercaloric consumption and / or different amounts of other nutrients. However, our study has limitations that need to be outlined. The study presents as a limitation the absence of detailed investigation of cell types such as differential count of white blood cell and expression of cellular markers by means of flow cytometric *immunophenotyping*. Indeed, they are considered good biomarker of low intensity inflammation as observed in the postprandial period (10, 36).

In conclusion this study showed that meal fructose overload increase TG and leukocytes what it may contributed to the development of metabolic disorders in normal weight women. However, other studies with similar experimental designs are needed to confirm these data and allow stratification to the general population.

Acknowledgments

The present study was performed at the Alpha Institute of Gastroenterology of the Hospital das Clínicas of Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. The authors are grateful to the study participants for their cooperation. Financial assistance from Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG, Capes, FAPEMIG and CNPq is gratefully acknowledged.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest. The founding sponsors had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, and in the decision to publish the results.

Author Contributions

AMSR participated in the design of the study; acquisition, analysis and interpretation of data; and manuscript preparation. LBM, MHAA, GBPF collaborated regarding the acquisition analysis and the interpretation of data. MITDC and AVMF contributed to the conception and design of the study; interpretation and critical revision of data; and approval of the final version. All authors critically reviewed the manuscript and approved the final version submitted for publication.

References:

1. Angelopoulos TJ, Lowndes J, Sinnott S, Rippe JM. Fructose Containing Sugars at Normal Levels of Consumption Do Not Effect Adversely Components of the Metabolic Syndrome and Risk Factors for Cardiovascular Disease. *Nutrients*. 2016;8(4):179.
2. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Sabuncu T, Sentürk H. Fructose as a key player in the development of fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2013;19(8):1166-72.
3. Nomura K, Yamanouchi T. The role of fructose-enriched diets in mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem*. 2012;23(3):203-8.
4. Zhang DM, Jiao RQ, Kong LD. High Dietary Fructose: Direct or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Functions. *Nutrients*. 2017;9(4).
5. Bidwell AJ. Chronic Fructose Ingestion as a Major Health Concern: Is a Sedentary Lifestyle Making It Worse? A Review. *Nutrients*. 2017;9(6).
6. Aeberli I, Hochuli M, Gerber PA, Sze L, Murer SB, Tappy L, et al. Moderate amounts of fructose consumption impair insulin sensitivity in healthy young men: a randomized controlled trial. *Diabetes Care*. 2013;36(1):150-6.
7. Stanhope KL, Bremer AA, Medici V, Nakajima K, Ito Y, Nakano T, et al. Consumption of fructose and high fructose corn syrup increase postprandial triglycerides, LDL-cholesterol, and apolipoprotein-B in young men and women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(10):E1596-605.
8. Stanhope KL, Havel PJ. Fructose consumption: considerations for future research on its effects on adipose distribution, lipid metabolism, and insulin sensitivity in humans. *J Nutr*. 2009;139(6):1236S-41S.
9. Stanhope KL, Medici V, Bremer AA, Lee V, Lam HD, Nunez MV, et al. A dose-response study of consuming high-fructose corn syrup-sweetened beverages on lipid/lipoprotein risk factors for cardiovascular disease in young adults. *Am J Clin Nutr*. 2015;101(6):1144-54.
10. Emerson SR, Kurti SP, Harms CA, Haub MD, Melgarejo T, Logan C, et al. Magnitude and Timing of the Postprandial Inflammatory Response to a High-Fat Meal in Healthy Adults: A Systematic Review. *Adv Nutr*. 2017;8(2):213-25.
11. Lee H, Lee IS, Choue R. Obesity, inflammation and diet. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2013;16(3):143-52.
12. Peairs AD, Rankin JW, Lee YW. Effects of acute ingestion of different fats on oxidative stress and inflammation in overweight and obese adults. *Nutr J*. 2011;10:122.
13. Dekker MJ, Wright AJ, Mazurak VC, Marangoni AG, Rush JW, Graham TE, et al. Fasting triacylglycerol status, but not polyunsaturated/saturated fatty acid ratio,

influences the postprandial response to a series of oral fat tolerance tests. *J Nutr Biochem.* 2009;20(9):694-704.

14. Parks EJ. Changes in fat synthesis influenced by dietary macronutrient content. *Proc Nutr Soc.* 2002;61(2):281-6.

15. Masuda D, Yamashita S. Postprandial Hyperlipidemia and Remnant Lipoproteins. *J Atheroscler Thromb.* 2017;24(2):95-109.

16. Borén J, Matikainen N, Adiels M, Taskinen MR. Postprandial hypertriglyceridemia as a coronary risk factor. *Clin Chim Acta.* 2014;431:131-42.

17. Peluso I, Raguzzini A, Villano DV, Cesqui E, Toti E, Catasta G, et al. High fat meal increase of IL-17 is prevented by ingestion of fruit juice drink in healthy overweight subjects. *Curr Pharm Des.* 2012;18(1):85-90.

18. Rodrigues DF, Henriques MC, Oliveira MC, Menezes-Garcia Z, Marques PE, Souza DaG, et al. Acute intake of a high-fructose diet alters the balance of adipokine concentrations and induces neutrophil influx in the liver. *J Nutr Biochem.* 2014;25(4):388-94.

19. Gallagher C, Keogh JB, Pedersen E, Clifton PM. Fructose acute effects on glucose, insulin, and triglyceride after a solid meal compared with sucralose and sucrose in a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr.* 2016;103(6):1453-7.

20. Jameel F, Phang M, Wood LG, Garg ML. Acute effects of feeding fructose, glucose and sucrose on blood lipid levels and systemic inflammation. *Lipids Health Dis.* 2014;13:195.

21. Theytaz F, de Giorgi S, Hodson L, Stefanoni N, Rey V, Schneiter P, et al. Metabolic fate of fructose ingested with and without glucose in a mixed meal. *Nutrients.* 2014;6(7):2632-49.

22. Smeraglio AC, Kennedy EK, Horgan A, Purnell JQ, Gillingham MB. Change in postprandial substrate oxidation after a high-fructose meal is related to body mass index in healthy men. *Nutr Res.* 2013;33(6):435-41.

23. Hulley SB, Cummings SR BW, Grady D, Newman T. *Designing clinical research.* . Fourth ed2013. 367 p.

24. Milan AM, Pundir S, Pileggi CA, Markworth JF, Lewandowski PA, Cameron-Smith D. Comparisons of the Postprandial Inflammatory and Endotoxaemic Responses to Mixed Meals in Young and Older Individuals: A Randomised Trial. *Nutrients.* 2017;9(4).

25. Yau AM, McLaughlin J, Maughan RJ, Gilmore W, Evans GH. The Effect of Short-Term Dietary Fructose Supplementation on Gastric Emptying Rate and Gastrointestinal Hormone Responses in Healthy Men. *Nutrients.* 2017;9(3).

26. Lambert JE, Parks EJ. Postprandial metabolism of meal triglyceride in humans. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1821(5):721-6.
27. Parks EJ, Skokan LE, Timlin MT, Dingfelder CS. Dietary sugars stimulate fatty acid synthesis in adults. *J Nutr*. 2008;138(6):1039-46.
28. Jeppesen J, Chen YI, Zhou MY, Schaaf P, Coulston A, Reaven GM. Postprandial triglyceride and retinyl ester responses to oral fat: effects of fructose. *Am J Clin Nutr*. 1995;61(4):787-91.
29. Burton-Freeman B. Postprandial metabolic events and fruit-derived phenolics: a review of the science. *Br J Nutr*. 2010;104 Suppl 3:S1-14.
30. Blackburn P, Després JP, Lamarche B, Tremblay A, Bergeron J, Lemieux I, et al. Postprandial variations of plasma inflammatory markers in abdominally obese men. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14(10):1747-54.
31. Teff KL, Grudziak J, Townsend RR, Dunn TN, Grant RW, Adams SH, et al. Endocrine and metabolic effects of consuming fructose- and glucose-sweetened beverages with meals in obese men and women: influence of insulin resistance on plasma triglyceride responses. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(5):1562-9.
32. Teff KL, Elliott SS, Tschöp M, Kieffer TJ, Rader D, Heiman M, et al. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2963-72.
33. Calder PC, Ahluwalia N, Brouns F, Buetler T, Clement K, Cunningham K, et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *Br J Nutr*. 2011;106 Suppl 3:S5-78.
34. Calder PC, Ahluwalia N, Albers R, Bosco N, Bourdet-Sicard R, Haller D, et al. A consideration of biomarkers to be used for evaluation of inflammation in human nutritional studies. *Br J Nutr*. 2013;109 Suppl 1:S1-34.
35. Mah E, Noh SK, Ballard KD, Matos ME, Volek JS, Bruno RS. Postprandial hyperglycemia impairs vascular endothelial function in healthy men by inducing lipid peroxidation and increasing asymmetric dimethylarginine:arginine. *J Nutr*. 2011;141(11):1961-8.
36. Cox CL, Stanhope KL, Schwarz JM, Graham JL, Hatcher B, Griffen SC, et al. Consumption of fructose- but not glucose-sweetened beverages for 10 weeks increases circulating concentrations of uric acid, retinol binding protein-4, and gamma-glutamyl transferase activity in overweight/obese humans. *Nutr Metab (Lond)*. 2012;9(1):68.
37. Cox CL, Stanhope KL, Schwarz JM, Graham JL, Hatcher B, Griffen SC, et al. Circulating concentrations of monocyte chemoattractant protein-1, plasminogen activator inhibitor-1, and soluble leukocyte adhesion molecule-1 in overweight/obese

men and women consuming fructose- or glucose-sweetened beverages for 10 weeks. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(12):E2034-8.

38. Aeberli I, Gerber PA, Hochuli M, Kohler S, Haile SR, Gouni-Berthold I, et al. Low to moderate sugar-sweetened beverage consumption impairs glucose and lipid metabolism and promotes inflammation in healthy young men: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(2):479-85.

6 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que o consumo agudo de sobrecarga de frutose associado à dieta padronizada promove hiperlipemia e aumento da quantidade de leucócitos circulantes. Estes eventos podem representar modificações iniciais para o desenvolvimento de doenças metabólicas e por isso, contribuem para a compreensão de como componentes da dieta podem interferir na homeostase inflamatória.

APÊNDICES

A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos a Sra. _____ para participar da Pesquisa “Resposta metabólica e inflamatória pós-prandial após ingestão aguda de diferentes tipos de carboidrato associada à dieta mista em indivíduos saudáveis” que tem como objetivo estudar se o consumo de uma refeição com variados tipos de carboidrato modifica o metabolismo de açúcar e gordura e gera inflamação no corpo logo após a ingestão dos alimentos.

Depois da assinatura desse termo, você deverá responder um questionário sobre a sua alimentação e condições de vida e, realizar um exame de sangue para avaliar como está sua saúde. Iremos medir sua pressão, peso, altura, circunferência da cintura e quadril, quantidade de gordura e músculo do seu corpo utilizando um aparelho chamado de bioimpedância elétrica e gasto de energia corporal usando o aparelho de calorimetria indireta. Nenhuma dessas medidas irá provocar risco a sua saúde. Você deverá voltar ao ambulatório em jejum noturno de onze horas, por mais três dias, em meses diferentes, para uma nova avaliação. Nesse dia, uma sonda de plástico será colocada em uma veia do seu braço para coleta de sangue e o protocolo inicial (questionário e medidas) será repetido. Você deverá consumir uma refeição em dez min e em seguida, serão coletadas 5 amostras de sangue do seu braço nos intervalos de 30 min, 1 hora, 2 horas, 3 horas e 4 horas depois da alimentação.

Na semana anterior a visita ao ambulatório, você deverá evitar o consumo de alimentos que contenham sacarose ou frutose como refrigerantes, produtos adoçados com açúcar, mel, xarope de milho ou frutose (sucos, café, chás), frutas secas (uva passas, ameixa, damasco, dentre outros), chocolates e achocolatados. Durante o período total do estudo, você não diminuir ou aumentar seu peso, nem mesmo alterar a atividade física realizada.

Você poderá sentir um formigamento passageiro na pele durante o uso do aparelho que passa uma corrente elétrica para avaliar a gordura e músculo do corpo, porém não sentirá dor. Além disso, poderá sentir um incômodo no momento da coleta do sangue por causa da introdução da agulha.

Sua participação ajudará os profissionais entenderem melhor o metabolismo e se ocorre inflamação no corpo depois de uma refeição e se o tipo de carboidrato altera essa resposta, podendo assim ajudar a evitar o desenvolvimento de doenças relacionadas à alimentação.

A Sra. não terá nenhuma despesa, sendo sua participação voluntária, podendo sair da pesquisa a qualquer momento, sem que seu tratamento seja prejudicado. Os resultados serão utilizados para pesquisa, mas sua identidade não será divulgada.

Em caso de dúvidas relacionadas a questões éticas, como em relação ao comportamento das avaliadoras ou dos procedimentos realizados, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, UFMG (31) 3409-4592, localizado na Av. Antônio Carlos, 6627 - Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005 Campus Pampulha, Belo Horizonte/MG.

Eu, _____, fui informado sobre o que o pesquisador quer fazer e porque precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser. Este documento tem duas cópias que serão assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma cópia com cada um de nós.

Belo Horizonte, _____ de _____ de 2013.

Nome e nº do registro

Assinatura do Participante

Nome

Assinatura do Estudante

Nome

Assinatura do Pesquisador

Ana Maria Rodrigues (Estudante) - (31) 8788-6509/anamarod@gmail.com

Adaliene Versiani Matos Ferreira (Pesquisadora) (31) 96113770/ adaliene@gmail.com

B – PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS

1) Identificação

Nome: _____ Sexo: (1) Feminino (2) Masculino

Contato: () ____ - ____ Estado Civil: (1) Solteiro (2) Casado Data nasc. __/__/__

Idade _____ anos.

Atividade física: (1) Não (2) Sim - Tipo: _____ Frequência: _____ Duração: _____

Presença de doença: (1) Não (2) Sim, Qual? _____

Uso de medicamento: (1) Não (2) Sim, Qual? _____

Tabagista? (1) Não (2) Sim _____

Bebida alcoólica: (1) Não (2) Sim - Tipo: _____ Frequência: _____ Quantidade: _____

Perda de peso nos últimos 6 meses: (1) Não (2) Sim

Cirurgia prévia para perda de peso: (1) Não (2) Sim

Data da última menstruação: __/__/____ Ciclos regulares: (1) Não (2) Sim

2) Avaliação Antropométrica

Variável	Avaliação inicial ____/____/____	Refeição A ____/____/____	Refeição B ____/____/____	Refeição C ____/____/____
Peso atual (kg)				
Altura (m)				
CC (cm)				
CQ (cm)				

3) Avaliação Composição Corporal

Variável	Avaliação inicial ____/____/____	Refeição A ____/____/____	Refeição B ____/____/____	Refeição C ____/____/____
Gordura corporal (%)				
Massa livre de gordura (%)				
Água corporal total (%)				
Massa livre de gordura (Kg)				

4) Pressão Arterial				
Variável	Avaliação inicial ____/____/____	Refeição A ____/____/____	Refeição B ____/____/____	Refeição C ____/____/____
P Arterial				
5) Calorimetria Indireta – GER:				

6) Registro Alimentar

Refeição ____/____/____

<i>Refeição</i>	<i>Alimento/ Preparação</i>	<i>Quantidade</i>	<i>OBS:</i>
<i>Desjejum</i> <i>Horário:</i>			
<i>Colação</i> <i>Horário:</i>			
<i>Almoço</i> <i>Horário:</i>			
<i>Lanche da Tarde</i> <i>Horário:</i>			
<i>Jantar</i> <i>Horário:</i>			
<i>Ceia</i> <i>Horária:</i>			

Refeição ___/___/___

Refeição	Alimento/ Preparação	Quantidade	OBS:
Desjejum Horário:			
Colação Horário:			
Almoço Horário:			
Lanche da Tarde Horário:			
Jantar Horário:			
Ceia Horária:			

Refeição ___/___/___

Refeição	Alimento/ Preparação	Quantidade	OBS:
-----------------	-----------------------------	-------------------	-------------

<i>Desjejum</i> <i>Horário:</i>			
<i>Colação</i> <i>Horário:</i>			
<i>Almoço</i> <i>Horário:</i>			
<i>Lanche da Tarde</i> <i>Horário:</i>			
<i>Jantar</i> <i>Horário:</i>			
<i>Ceia</i> <i>Horária:</i>			

ANEXO

A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 21852314.7.0000.5149

Interessado(a): Profa. Adaliene Versiani Matos Ferreira
Departamento de Nutrição
Escola de Enfermagem- UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 16 de abril de 2014, o projeto de pesquisa intitulado **“Resposta metabólica e inflamatória pós-prandial após ingestão aguda de diferentes tipos de carboidrato associada à dieta mista em indivíduos sadios”** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Prof. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

PRODUÇÕES CIENTÍFICAS

Estão listadas abaixo as produções científicas desenvolvidas durante o período do doutorado, relacionadas a outros projetos desenvolvidos em paralelo junto aos grupos de pesquisa Imunometabolismo e de Nutrição do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG coordenados pelas orientadoras deste trabalho.

A - Artigo publicado como primeira autora em periódico internacional:

RODRIGUES AM, COSTA ABP, CAMPOS DL, SILVA MPS, CÂNDIDO AL, SANTOS LC, FERREIRA AVM. Low validity of predictive equations for calculating resting energy expenditure in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome. *J Hum Nutr Diet*. 2018;31(2):266-275. doi: 10.1111/jhn.12498.

B - Artigos publicados como coautora em periódicos internacionais:

MARTINS, LB, **RODRIGUES AMSR**, RODRIGUES DF, Dos SANTOS LC, TEIXEIRA AL, FERREIRA, AVM. Double-blind placebo-controlled randomized clinical trial of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) addition in migraine acute treatment. *Cephalalgia*. 2018 Jan 1:333102418776016. doi: 10.1177/0333102418776016.

PENA NF, MAURICIO SF, **RODRIGUES AMS**, CARMO AS, COURY NC, CORREIA MITD, GENEROSO SV. Association Between Standardized Phase Angle, Nutrition Status, and Clinical Outcomes in Surgical Cancer Patients. *Nutr Clin Pract*. 2018;0:1–6.

PESTANA RM, DOMINGUETI CP, DUARTE RC, FÓSCOLO RB, REIS JS, RODRIGUES AM, MARTINS LB, SOUSA LP, LAGE DP, FERREIRA CN, FERREIRA AV, FERNANDES AP, GOMES KB. Cytokines profile and its correlation with endothelial damage and oxidative stress in patients with type 1 diabetes mellitus and nephropathy. *Immunol Res* 2016;64(4):951-960. doi: 10.1007/s12026-016-8806-x.

D - Artigos publicados em periódicos nacionais:

JANSEN AK, GENEROSO SV, GUEDES EG, **RODRIGUES AM**, MIRANDA LAVO, HENRIQUES GS. Development of enteral homemade diets for elderly persons receiving home care and analysis of macro and micronutrient composition. *Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.* 2017;20(3):387-397. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1981-22562017020.160168>.

SOUZA TM, **RODRIGUES AMS**, CAMPOS BDLF, COUTO ACP, OLIVEIRA DR. Adesão de Servidores Públicos a Programa de Qualidade de Vida e Intervenção Nutricional. *O Mundo da Saúde*, 2015;39(1):92-101. Disponível em: https://www.saocamilo-sp.br/pdf/mundo_saude/155569/A09.pdf

JANSEN AK, SILVA KC, HENRIQUES GS, COIMBRA JR, RODRIGUES MTG, **RODRIGUES AMS**, CAMPOS SF, GENEROSO SVG. Relato De Experiência: Terapia Nutricional Enteral Domiciliar - Promoção Do Direito Humano À Alimentação Adequada Para Portadores De Necessidades Alimentares Especiais. *DEMETRA: ALIMENTAÇÃO, NUTRIÇÃO & SAÚDE*, 2015;9:233-247. DOI: <http://dx.doi.org/10.12957/demetra.2014.10300>

E - Capítulos de livros publicados:

MARTINS, LB, RODRIGUES AMS. **OSTEOPOROSE. In: DIETOTERAPIA NAS DOENÇAS DO ADULTO.** 1ª Edição, Rio de Janeiro, Editora Rubio, 2018, pp. 285-292.

CORREIA MITD, RODRIGUES AMS. **EFEITOS DA TERAPIA NUTRICIONAL PÓS-OPERATÓRIA. In: NUTRIÇÃO ORAL, ENTERAL E PARENTERAL NA PRÁTICA CLÍNICA,** v. 2, 5ª Edição Revisada, Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 2017, pp. 2057-2070.

CORREIA MITD, RODRIGUES AM. **Nutrição e Cirurgia. In: Fundamentos em Clínica Cirúrgica,** Belo Horizonte, Folium Editorial, 2017, pp. 240-276.

CORREIA MITD, RODRIGUES AM. **Nutrição e Cirurgia. In: Fundamentos em Clínica Cirúrgica,** Belo Horizonte, Folium Editorial, 2017, pp. 950-966.