Universidade Federal do Rio de Janeiro

Centro de Ciências da Saúde

Instituto de Nutrição Josué de Castro

Programa de Pós-Graduação em Nutrição

Influência da Ingestão de Frutose ou Glicose na Glicemia, Glucagon, Trigliceridemia, Uricemia e Malondialdeído Pós-prandial de Indivíduos com Diabetes Mellitus Tipo 1

Débora Lopes Souto

Rio de Janeiro - RJ

Novembro – 2015

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Centro de Ciências da Saúde

Instituto de Nutrição Josué de Castro

Programa de Pós-Graduação em Nutrição

Débora Lopes Souto

Influência da Ingestão de Frutose ou Glicose na Glicemia, Glucagon, Trigliceridemia, Uricemia e Malondialdeído Pós-prandial de Indivíduos com Diabetes Mellitus Tipo 1

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências Nutricionais.

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Lopes Rosado

Coorientadora: Profa. Dra. Melanie Rodacki

Rio de Janeiro - RJ

Novembro – 2015

Débora Lopes Souto

Influência da Ingestão de Frutose ou Glicose na Glicemia, Glucagon, Trigliceridemia, Uricemia e Malondialdeído Pós-prandial de Indivíduos com Diabetes Mellitus Tipo 1

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências Nutricionais

Rio de Janeiro, 18 novembro de 2015.

Dra. Eliane Lopes Rosado

Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Dra. Lenita Zajdenverg

Doutora em Clínica Médica – Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Dr. João Regis Ivar Carneiro

Doutor em em Clínica Médica – Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Dra. Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha

Doutora em Nutrição – Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Dra. Elizabety Accioly

Doutora em Nutrição – Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Dra. Claudia Saunders (revisora)

Doutora em Ciências – Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, cito uma frase do autor português Eça de Queiroz a fim de agradecer as bênçãos que Deus me concede todos os dias: "*Nada na vida acontece por um acaso, e se aconteceu Deus quis assim. O que me resta é só correr atrás de meus objetivos, ainda mesmo que pessoas conspirem ao contrario, Deus estará comigo*".

A meus pais Vera e Alexandre, que estão presentes em todos os momentos. Não tenho palavras para descrever o amor e gratidão que tenho por eles, pois, são mais do que apenas "pais", são meus amigos, companheiros, confidentes.

Aos meus tios Ana Maria, Maria Helena, Paulo e Anete, que estão sempre presentes.

Aos tios Fátima e Manuel e primos Andreia e Daniel que rezam por mim.

Ao meu namorado, Victor Hugo. Meu companheiro e confidente.

A minha orientadora Profa. Eliane Lopes Rosado, que acreditou em mim, aceitando orientar-me nas pesquisas de mestrado e doutorado com o tema que eu idealizei.

A minha coorientadora, Dra. Melanie Rodacki, que crê no meu trabalho, incentiva o meu crecimento acadêmico/profissional, mostrando-se gentil e terna quando a procuro.

À Dra. Lenita Zajdenverg, sempre atenciosa e afetuosa, colaborando com as pesquisas e confiando em mim como nutricionista e pesquisadora.

À Profa. Cláudia Saunders, pelas contribuições com a revisão da tese.

Ao Dr. José Egídio e à nutricionista Maria Adelaide Santos, por favorecerem o acesso às instalações do hospital para a coleta de dados.

Ao Dr. Marcus Miranda e à Dra. Joana Dantas pela contribuição à pesquisa.

Aos voluntários que aceitaram participar da pesquisa.

RESUMO

OBJETIVO: Avaliar a influência da solução de frutose e de glicose na glicemia, glucagon, trigliceridemia, uricemia e malondialdeído pós-prandial de indivíduos com diabetes mellitus tipo 1 (DM1). **MÉTODOS:** Trata-se de um ensaio clínico simples cego, randomizado com delineamento 2x2, *crossover*, com período de *washout* de 2-7 semanas de intervalo, incluindo dezesseis indivíduos com DM1, sendo sete mulheres e nove homens, com média de idade de 25,1 ± 8,8 anos, tempo médio de diagnóstico do DM1 de 14,8 ± 4,7 anos, índice de massa corporal médio de 24,7 ± 3,6 kg/m^2 e média de hemoglobina glicada de 8,1 ± 1,8%, sem complicações do DM ou outras doenças crônicas. Em cada dia de estudo, os voluntários receberam uma solução teste (75g de glicose ou frutose dissolvidas em água) via oral em ordem aleatória e responderam à escala quanto à palatabilidade das mesmas. Amostras de sangue venoso foram colhidas após 8h de jejum noturno e 180 min após a solução para avaliação da glicemia, glucagon, trigliceridemia, ácido úrico, lactato, e malondialdeído. As análises estatísticas foram realizadas no software SPSS versão 17.0, com nível de significância de 5%. **RESULTADOS:** Apesar da glicose apresentar menor diluição ($p<0,01$), a palatabilidade das soluções mostrou-se semelhante. A solução de glucose resultou em maior glicemia pós-prandial, comparada com a frutose (12,9 ± 4,1 mmol/L; e 4,4 ± 5,5 mmol/L, respectivamente; $p<0,01$). As concentrações de ácido úrico elevaram-se após a solução de frutose (0,4 ± 0,8 µmol/L; $p<0,01$) e reduziram após a solução de glicose (-0,2 ± 0,1 µmol/L; $p<0.01$) ($p<0,01$). A solução contendo frutose aumentou o malondialdeído (1,4 ± 1,6 µmol/L; $p<0,01$) e a solução de glicose não alterou as concentrações deste marcador de estresse oxidativo (-0,2 ± 1,6 µmol/L; $p=0,40$). Outras variáveis não diferiram entre as soluções. **CONCLUSÃO:** Ambas as soluções demonstram palatabilidade semelhante. A frutose

resultou em menor glicemia pós-prandial comparada à glicose, porém, elevou as concentrações de ácido úrico e malondialdeído. A ingestão destes monossacarídeos por indivíduos com DM1 não alterou a trigliceridemia, o glucagon e o lactato pós-prandiais.

PALAVRAS CHAVE: diabetes mellitus tipo 1; frutose; glicose; estresse oxidativo; glicemia; triglicerídeos; uricemia.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To test the influence of fructose and glucose solutions in the blood glucose, glucagon, triglycerides, uricaemia, and malondialdehyde levels in the postprandial state in patients with type 1 diabetes. **METHODS:** The study was a simple-blind, randomized, two-way crossover design in which 2-7 week washout period, including sixteen patients with type 1 diabetes, seven women and nine men, with a mean age of 25.1 ± 8.8 years old, a mean duration of disease of 14.8 ± 4.7 years, a mean body mass index of 24.7 ± 3.6 kg/m^2, and a mean glycated hemoglobin of 8.1 ± 1.8%, without diabetes complications or other chronic diseases. In each study day, volunteers received an oral test solution (75g glucose or fructose) in random order, and then complete questionnaires assessing the sweetness and palatability of the solution. Venous blood samples were drawn after 8h fasting and at 180 min postprandial to obtain results of the glucose, glucagon, triglycerides, uric acid, lactate, and malondialdehyde levels. Statistical analyzes were performed in SPSS software version 17.0, with significance level of 5%. **RESULTS:** Although the glucose present lower dilution ($p<0.01$), the palatability of the solutions was similar. Glucose solutions resulted in greater postprandial glycemia when compared to fructose (12.9 ± 4.1 mmol/L; and 4.4 ± 5.5 mmol/L, respectively; $p<0.01$). Uric acid levels increased after fructose solution (0.4 ± 0.8 µmol/L; $p<0.01$) and reduced after glucose solution (-0.2 ± 0.1 µmol/L; $p<0.01$) ($p<0.01$). Fructose solution increase the malondialdehyde (1.4 ± 1.6 µmol/L; $p<0.01$), while glucose solution did not change the malondialdehyde levels (-0.2 ± 1.6 µmol/L; $p=0.40$). Other variables did not significantly differ between solutions. **CONCLUSION:** Both solutions had similar palatability. Fructose resulted in lower glucose concentrations compared to glucose, however,

increased uric acid and malondialdehyde levels. The intake of these monosaccharides by individuals with DM1 did not change postprandial triglycerides, glucagon, and lactate levels.

KEY-WORDS: type 1 diabetes mellitus; fructose; glucose; oxidative stress; glycaemia; triglycerides; uricaemia.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADP – adenosina difosfato

AGE – *advanced glycation end products* (produtos da glicação avançada)

ALT – alanina aminotransferase

AST – aspartato aminotransferase

ATP – adenosina trifosfato

BMI – *body mass index*

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CBG – *capillary blood glucose*

CI – *confidence interval*

CG – carga glicêmica

DM – diabetes mellitus

DM1 – diabetes mellitus tipo 1

DM2 – diabetes mellitus tipo 2

DNA – ácido desoxirribonucleico

DRIs – *Dietary Reference Intakes*

DP – desvio padrão

ELISA – *enzyme-linked immunosorbent assay*

ERN – espécie reativa de nitrogênio

ERO – espécie reativa de oxigênio

$FADH_2$ – hidrogênio flavina adenina dinucleotídeo

FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

FDA – *Food and Drugs Administration*

GLP-1 – peptídeo semelhante ao glucagon 1

GLUT – *glucose transporter* (transportador de glicose)

GLUT-1 – transportador de glicose do tipo 1

GLUT-2 – transportador facilitado de glicose independente do sódio

GLUT-3 – transportador de glicose do tipo 3

GLUT-4 – transportador de glicose dependente de insulina

GLUT5 – transportador não-dependente de insulina

GTP – guanosina trifosfato

HDL – lipoproteínas de alta densidade

HbA1c – hemoglobina glicada

HLA – *human leukocyte antigen* (sistema antígeno leucocitário humano)

HUCFF – Hospital Universitário Clementino Fraga Filho

IC – intervalo de confiança

IDA – ingestão diária aceitável

IG – índice glicêmico

IMC – índice de massa corporal

INJC – Instituto de Nutrição Josué de Castro

IR – *insulin receptor* (receptor de insulina)

IRS – *insulin receptor substrate* (substratos do receptor de insulina)

LACFAR – Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia

LDL – lipoproteínas de baixa densidade

LQD – *limit of quantitation* (limite de quantificação)

LOD – *limit of detection* (limite de detecção)

MHC – *major histocompatibility complex* (complexo principal de histocompatibilidade)

mTOR – *mammalian target of rapamycin*

NAD^+ – dinucleotido de nicotinamida e adenina

NADH – nicotinamida adenina dinucleótido hidreto

NPH – *neutral protamine Hagedorn*

OFTT – *oral fructose tolerance test*

OGTT – *oral glucose tolerance test*

PHAS1 – *phosphorylated heat-stable and acid-stable protein*

SGLT1 – transportador ativo dependente do sódio

SH2 – *Src homology 2*

SICI – sistema de infusão contínua de insulina

TEI – *total energy intake*

TCD4 – linfócitos T auxiliares

TCD8 – linfócitos T citotóxicos

TCLE – termo de consentimento livre e esclarecido

UDP – difosfato de uracila

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

UTP – trifosfato de uracila

VLDL – lipoproteínas de muito baixa densidade

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS iv
RESUMO v
ABSTRACT vii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS ix
SUMÁRIO xii
ÍNDICE DE FIGURAS xv
ÍNDICE DE TABELAS xvi
ÍNDICE DE QUADROS xvii
1. APRESENTAÇÃO 1
2. INTRODUÇÃO 3
3. REFERENCIAL TEÓRICO 5
3.1. Epidemiologia, fisiopatologia e tratamento do diabetes mellitus tipo 1 5
3.1.1. Epidemiologia 5
3.1.2. Fisiopatologia do diabetes mellitus tipo 1 5
3.1.3. Tratamento clínico do diabetes mellitus tipo 1 7
3.1.4. Tratamento nutricional do diabetes mellitus tipo 1 9
3.2. Recomendações de carboidratos para indivíduos com diabetes mellitus tipo 1 11
3.3. Considerações sobre o uso de açúcares e edulcorantes não calóricos 14
3.4. Digestão, absorção e metabolismo dos carboidratos 19
3.5. Influência da frutose e da glicose na glicemia 28
3.6. Influência da frutose e glicose na secreção de glucagon 30
3.7. Influência da frutose e da glicose na lipemia 32
3.8. Influência da frutose e da glicose na uricemia 34
3.9. Influência da frutose e da glicose no estresse oxidativo 36
4. JUSTIFICATIVA 40
5. OBJETIVOS 41
5.1. OBJETIVO GERAL 41
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 41
6. METODOS 42
6.1. Aspectos éticos 42

6.2. Delineamento do estudo 42
6.3. Local e captação dos voluntários 43
6.4. Critérios de elegibilidade 43
6.5. Fluxograma do estudo 45
6.6. Composição das soluções teste 47
6.7. Avaliação dietética 48
6.8. Avaliação da prática de atividade física 48
6.9. Avaliação antropométrica 49
6.10. Avaliação laboratorial 51
6.11. Avaliação da palatabilidade das soluções 53
6.12. Controle do diabetes mellitus 54
6.13. Análise estatística 54
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO 55
8. NOTAS METODOLÓGICAS 87
8.1. Descrição da ingestão dietética habitual dos participantes 87
8.2. Análise de variáveis que poderiam alterar o efeito das soluções de frutose e glicose nas variáveis avaliadas 87
8.3. Comparação do efeito das soluções de glicose e frutose, estratificados por sexo 89
9. CONCLUSÕES 93
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS 94
11. SUGESTÕES DE CONTINUIDADE DO ESTUDO 95
12. REFERÊNCIAS 96
13. ANEXOS 109
A. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Clementino Fraga Filho 109
B. Registro no registrado no ClinicalTrial.gov 110
C. Prêmio Jovem Cientista do Nosso Estado 111
D. Termo de consentimento livre e esclarecido 112
E. Questionário pré-exame 114
F. Frutose (pó branco cristalino – Lowçucar®) 115
G. Glicose (dextrose em pó – Glutol Laborclin®) 116
H. Ficha para registro dietético habitual 117
I. Questionário internacional de atividade física 118
J. Escala de palatabilidade 120

K. CONSORT 2010 checklist referente ao manuscrito 121
L. Flow Diagram referente ao manuscrito 122

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma de recrutamento.....44

Figura 2 – Fluxograma de realização do estudo.....46

Figura 3 – Fluxograma de cada experimento 47

ÍNDICE DE TABELAS

Table 1 - Baseline characteristcs of the study group 78

Table 2 - Sweetness and palatability characteristics of OFTT and OGTT 79

Table 3 - Capillary blood glucose concentrations (mmol/L) at baseline and over time the OFTT and OGTT 80

Table 4 - Effects of OFTT and OFTT on baseline (T_0) and postprandial (T_{180}) laboratory tests 81

Supplementary table 1 - *Basal/bolus insulin therapy of the study group* *82*

Supplementary table 2 - *Baseline characteristics of the study group on the first and second day study* *83*

Supplementary table 3 - *Regular physical activity of the study group* *84*

Supplementary table 4 - *Usual dietary intake of the study group* *85*

Supplementary table 5 - *Regression coefficients between variables of interest and the difference of delta (Δ) between postprandial (T_{180}) and baseline (T_0) values between the OGTT and OFTT* *86*

Tabela 1 - Comparação das variáveis laboratoriais basais (T_0) e pós-prandiais (T_{180}) entre as soluções de glicose e frutose, por sexo dos pacientes com diabetes mellitus tipo 1. 90

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Características das insulinas exógenas 8

Quadro 2 - Edulcorantes não calóricos aprovados pela Food and Drug Administration 15

Quadro 3 - Locais de expressão e funções das proteínas transportadoras de glicose 23

Quadro 4 - Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio 36

1. APRESENTAÇÃO

O presente trabalho trata-se da minha tese de doutorado, orientada pela Dra. Eliane Lopes Rosado e coorientada pela Dra. Melanie Rodacki, professoras do Departamento de Nutrição e Dietética do Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC) e da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), respectivamente.

A parceria entre o INJC e o Serviço de Nutrologia da Faculdade de Medicina da UFRJ tem resultado em trabalhos conjuntos, tais como capítulos de livros, artigos científicos, trabalhos publicados em anais de eventos, além do retorno social com a melhora da qualidade de vida dos pacientes com DM1 atendidos no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF).

O público alvo da presente pesquisa tem sido meu foco de estudo no mestrado e doutorado, conduzidos no mesmo Programa de Pós-graduação em Nutrição e orientado pelas mesmas professoras. Desde 2009, época do estágio probatório para o mestrado, eu integro a equipe multidisciplinar de atendimento ambulatorial aos pacientes com DM1 no HUCFF.

O presente estudo faz parte de um projeto maior intitulado "*Influência da ingestão de frutose e glicose e do receptor gustativo TAS1R2 na glicemia, trigliceridemia, metabolismo energético, oxidação dos substratos, uremia, estresse oxidativo, sensações relacionadas à ingestão alimentar e palatabilidade de indivíduos com diabetes tipo 1*" que foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HUCFF (ANEXO A) e registrado no ClinicalTrial.gov (ANEXO B) sob o nome de "*Effect of fructose and glucose and TAS1R2 in glucose, triglycerides, uremia, oxidative stress, feelings related to food intake of individuals with type 1 diabetes*". O estudo recebeu financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) por meio do prêmio Jovem Cientista do Nosso Estado (E-26/103.026/2012) (ANEXO C). Recebi bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal

de Nível Superior (CAPES), e a mestranda que também esteve envolvida no projeto recebeu bolsa da FAPERJ.

O tema da pesquisa originou-se da observação de que a indústria tem utilizado a frutose em produtos para pacientes com diabetes mellitus (DM) tipo 1 (DM1), porém, a mídia relata que os açúcares, tais como: glicose e sacarose, são nocivos para indivíduos com DM1. Esses fatos contribuem para que os indivíduos com DM acreditem que a frutose seja um nutriente "saudável".

No entanto, a diferença do metabolismo de indivíduos saudáveis, de pacientes com DM tipo 2 (DM2) e com DM1 faz com que sejam necessárias investigações a fim de que as recomendações sobre a ingestão destes açúcares possam ser, possivelmente, diferenciadas entre estes distintos grupos.

O texto está organizado em seções, de modo que no *Referencial Teórico* são detalhados o objeto do estudo e as seções relevantes, quais sejam: fisiopatologia, epidemiologia e tratamento do DM1; digestão, absorção e metabolismo dos carboidratos; recomendações nutricionais de carboidratos para indivíduos com DM; considerações sobre o uso de açúcares e edulcorantes não calóricos; influência da frutose e glicose na glicemia, glucagonemia, trigliceridemia, uricemia e estresse oxidativo.

Em seguida descreve-se a *Justificativa e Hipótese*, os *Objetivos* e *Métodos*. A seguir as seções de *Resultados, Discussão, Limitações e Conclusões* estão descritas na forma de artigo ("*Postprandial metabolic effects of fructose and glucose in patients with type 1 diabetes: A randomized crossover clinical trial*" [a ser submetido ao periódico *Nutrition*]. Resultados adicionais foram incluídos nas *Notas Metodológicas*. Ao final, são descritas as *Conclusões, Considerações Finais, Sugestões de Continuidade do Estudo, Referências* e *Anexos*.

2. INTRODUÇÃO

O DM1 é uma doença autoimune caracterizada por destruição das células beta-pancreáticas, ocasionando hiperglicemia crônica decorrente da deficiência pancreática na síntese e secreção de insulina. Devido à ausência total na síntese endógena de insulina, pacientes com DM1 necessitam aplicar o hormônio, sendo que a dose de insulina administrada deve considerar a monitorização glicêmica e a necessidade de insulina para metabolizar os alimentos ingeridos (ADA, 2015a; SBD, 2015).

Indivíduos com DM1 possuem menor percepção gustativa para os quatro sabores básicos (doce, salgado, ácido e amargo) (Khobragade *et al.*, 2012; Hardy *et al.*, 1981), sendo esta alteração do paladar decorrente de complicações neuropáticas que podem originar-se no decorrer da doença (Le Floch *et al*., 1989).

Os carboidratos são os nutrientes que mais afetam a glicemia pós-prandial e a indústria alimentícia tem utilizado a frutose por ser mais doce que a sacarose e por induzir menores concentrações glicêmicas pós-prandiais, comparada com outros carboidratos (Gerrits e Tsalikian, 1993). No entanto, a ingestão de quantidades elevadas deste monossacarídeo pode ocasionar alterações lipêmicas (Havel, 2005), urêmicas (Mayes, 1993) e estresse oxidativo (Lim *et al.*, 2010), devido a sua rápida entrada na via glicolítica.

Indivíduos com DM1 apresentam maiores complicações consequentes desse processo porque a síntese elevada de ácido úrico está associada ao desenvolvimento de complicações vasculares (Bjornstad *et al*., 2014). Também, a frequente hiperglicemia em pacientes com DM1 gera maior produção de estresse oxidativo (Ceriello *et al*., 2014) e a hipertrigliceridemia está presente quando o controle glicêmico não está adequado (Homma *et al*., 2015; Feingold e Grunfeld, 2015).

Até o presente momento, não há na literatura pesquisas que avaliem as concentrações pós-prandiais de ácido úrico e malondialdeído de indivíduos com DM1 após a ingestão de

açúcares. Também, os estudos publicados somente comparam um monossacarídeo com um dissacarídeo ou carboidrato complexo, não havendo estudos comparando dois monossacarídeos.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Epidemiologia, fisiopatologia e tratamento do diabetes mellitus tipo 1

3.1.1. Epidemiologia

Estimativas da *International Diabetes Federation* preveêm para o ano de 2035 uma prevalência de 592 milhões de indivíduos adultos com DM no mundo. O mesmo relatório estima que, atualmente, haja 133,8 milhões de pessoas com DM. O Brasil é o quinto país no mundo em casos de DM e está em primeiro lugar do ranking de países da América do Sul e Central (IDF, 2013).

O DM1 corresponde a 5% dos casos (CDC, 2011), porém há dificuldades para estimar a frequência deste tipo de DM devido à inconsistência na notificação dos casos (IDF, 2013).

Estudo multicêntrico verificou uma grande variação na incidência de casos de DM1 entre as populações dos 50 países avaliados, sendo esta variação decorrente da distribuição étnica e racial na população mundial (Karvonen *et al*., 2000).

Em 1993, a estimativa do número de casos de DM1 na cidade de São Paulo mostrou-se na faixa média observada em países desenvolvidos (Ferreira *et al*., 1993). Também em São Paulo, comparando os dados do ano de 2008 com os obtidos no mesmo ambulatório durante o ano de 1998, Maruichi *et al* (2012), observaram um aumento na incidência de diagnósticos de DM1 em crianças com menos de cinco anos de idade.

3.1.2. Fisiopatologia do diabetes mellitus tipo 1

O DM é uma doença caracterizada por hiperglicemias decorrentes da deficiência pancreática na produção e secreção de insulina ou pela resistência à ação do hormônio. Os tipos mais comuns são o DM1, DM tipo 2 (DM2) e DM gestacional (ADA, 2015a; SBD, 2015).

Enquanto o DM2 é decorrente da resistência à insulina e/ou redução da secreção do insulina, o DM1 é caracterizado pela destruição das células beta-pancreáticas, ocorrendo em indivíduos com predisposição genética (ADA, 2015a; SBD, 2015).

A predisposição genética ao DM1 ainda está sendo investigada, com mais de sessenta genes já identificados como contribuidores para risco da doença (Morahan, 2012; Lempainen *et al*., 2013). A região do sistema antígeno leucocitário humano (*human leukocyte antigen* – HLA) está localizada no complexo principal de histocompatibilidade (major histocompatibility complex – MHC) e é altamente polimórfica. Os alelos HLA-DRB1 e HLA-DQA1/B1 no HLA de classe II exercem a maior contribuição genética para a susceptibilidade ao DM1 (Mychaleckyj *et al*., 2010). Os locus DR e DQ conferem risco para a doença por combinações de polimorfismos e/ou pela presença de genótipos isolados (Park, 2007; Mckinnon *et al*., 2009; Nguyen *et al*., 2013)

Genes não pertencentes ao MHC também podem contribuir no desenvolvimento do DM1. Dentre os mais estudados, podemos citar: *protein tyrosine phosphatase, non receptor 22*; gene da insulina; receptor da interleucina-2; *cytotoxic T-lymphocyte antigen* 4; transportador envolvido na apresentação de antígenos; e *interferon-induced with helicase C domain 1*. Porém, os efeitos individuais destas alterações genéticas são pequenas em comparação aos do sistema HLA-DQ (Regnell e Lernmark, 2013).

A autoimunidade pode ser desencadeada por um processo de mimetismo molecular, no qual um antígeno externo (agente etiológico) estimula que os macrófagos, células "*natural killer*", linfócitos T auxiliares (TCD4) e citotóxicos (TCD8) destruam as células beta-pancreáticas (Knip e Akerblom, 1999; Biros *et al*., 2005; Regnell e Lernmark, 2013). A ativação dos macrófagos estimula a migração de linfócitos T e a secreção de substâncias inflamatórias, estimulando a inflamação e autoimunidade (Boitard, 2012). Os linfócitos TCD8

destroem as moléculas do MHC de classe II porque as reconhecem como antígenos (Faustman e Davis, 2009).

Dentre os agentes etiológicos que podem desencadear o DM1 em indivíduos geneticamente predispostos, os mais estudados são: infecções virais (vírus *Coxsackie*, enterovírus, rotavírus, citomegalovírus, rubéola, caxumba, sarampo); toxinas (pesticidas, derivados de N-nitroso); estresse (Roy *et al*., 2011; Zung *et al*., 2012); sazonalidade (maior incidência do DM1 durante o inverno) (Soltesz *et al*., 1990); alimentação na infância (introdução precoce ao glúten (Frisk *et al*., 2008) e leite de vaca (Birgisdottir *et al*., 2006) ou tardia à cereais (Scott *et al*., 2002) e hipovitaminose D (Bener *et al*., 2009; Borkar *et al*., 2010; Mutlu *et al*., 2011).

O período que precede o desenvolvimento do DM1 é chamado de "fase de autoimunidade ativa", sendo evidenciado pela presença de anticorpos específicos (antiinsulina, anticorpo antidescarboxilase do ácido glutâmico e antiilhota pancreática do tipo 2) (Durinovic-Bello, 1998).

3.1.3. Tratamento clínico do diabetes mellitus tipo 1

Não há recomendações para a prevenção do DM1, porém, o controle glicêmico previne ou retarda o surgimento de complicações. As complicações agudas incluem a hipoglicemia, hiperglicemia e cetoacidose. Dentre as complicações crônicas, temos as microvasculares (retinopatia, nefropatia e neuropatia) e as macrovasculares (aterosclerose, doença arterial coronariana, acidente vascular encefálico, doença vascular periférica e insuficiência cardíaca) (SBD, 2015).

O tratamento do DM1 depende da reposição de insulina exógena a fim de reproduzir a secreção fisiológica pancreática, sendo o esquema basal/bolus o mais recomendado. Neste esquema, o indivíduo aplica a insulina de ação basal com a finalidade de fornecer o hormônio

durante as 24 horas do dia e aplica também insulina bolus (com ação rápida ou ultrarrápida) em cada refeição para impedir a elevação glicêmica pós-prandial e corrigir possíveis hiperglicemias (SBD, 2015). O quadro 1 apresenta as características das insulinas exógenas.

Quadro 1 - Características das insulinas exógenas

Tipo de insulina			**Nome comercial**	**Início**	**Pico**	**Duração**
Bolus	Rápida	Regular	-	30–60 minutos	2–4 horas	6–8 horas
	Análogos de ação ultrarrápida	Aspart	Novorapid®	10–15 minutos	30–90 minutos	4–6 horas
		Lispro	Humalog®			
		Glulisina	Apidra®			
Basais	Intermediárias	NPH	-	2–4 horas	6 – 7 horas	10–18 horas
	Análogos de ação ultralenta	Glargina	Lantus®	1–2 horas	Sem pico	24 horas
		Detemir	Levemir®	1–2 horas	Sem pico	20 horas
		Degludec	Tressiba®	1–2 horas	Sem pico	42 horas

Legenda: NPH, *neutral protamine Hagedorn.*

Fonte do quadro: adaptado de SBD, 2015.

As insulinas de ação basal compreendem os análogos de longa duração e a *neutral protamine Hagedorn* (NPH). A NPH é uma insulina de ação intermediária que deve ser aplicada entre 2 e 3 vezes ao dia, possuindo início de ação após 2-4 horas, pico entre 6-7 horas e duração entre 10-18 horas. Os análogos de longa duração do tipo glargina e detemir devem ser aplicados uma ou duas vezes ao dia, possuindo início de ação após 1-2 horas, atingindo um platô entre 4-6 horas e tendo término de efeito entre 20-24 horas. A degludec possui duração superior a 42 horas no organismo, mas deve ser aplicada uma vez ao dia (Schmid, 2007; Guimarães e Bahia, 2013).

Os análogos de insulina de ação ultrarrápida (lispro, aspart e glulisina) possuem propriedades farmacocinética e farmacodinâmica similares, sendo absorvidos mais

rapidamente (início de ação após 10- 15 minutos com duração de 4-6 horas) em comparação à insulina regular (início após 30 minutos e duração total de 6-8 horas). Os análogos têm este efeito porque a sua agregação em dímeros e em hexâmeros é menor no tecido subcutâneo, permitindo que a molécula seja absorvida do local da injeção mais rapidamente (Schmid, 2007). Tanto a insulina regular como os análogos de insulina de ação ultrarrápida devem ser aplicados de quatro a seis vezes ao dia (SBD, 2015).

O esquema basal/bolus pode ser realizado com múltiplas aplicações diárias de insulina, utilizando-se seringas ou canetas aplicadoras, ou por meio do sistema de infusão contínua de insulina (SICI). Neste último, apenas a insulina de ação ultrarápida é administrada em pequenas dosagens de forma constante e o indivíduo aciona o dispositivo para liberar a dosagem correspondente para o adequado metabolismo da refeição (SBD, 2015).

O automonitoramento diário da glicemia capilar é fundamental para pacientes com DM1. O ajuste da dose de insulina basal é realizado por meio da monitorização da glicemia capilar ao acordar, enquanto que a monitorização antes das refeicões possibilita que o paciente aplique a dose de insulina bolus para corrigir hiperglicemias. Pode ser necessária também a monitorização glicêmica pós-prandial (duas horas após as refeições), a fim de ajustar o fator de sensibilidade (resposta glicêmica a uma unidade de insulina) e a relacão insulina *versus* carboidrato (quantidade de carboidratos que é metabolizada por uma unidade de insulina) (Ginsber, 2008; SBD, 2015).

3.1.4. Tratamento nutricional do diabetes mellitus tipo 1

A Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2015) e a *American Diabetes Association* (ADA, 2014; 2015b) preconizam para pacientes com DM uma distribuição energética similar às *Dietary Reference Intakes* (DRIs) (Trumbo *et al.*, 2002), ou seja, planos alimentares semelhantes aos de indivíduos saudáveis: 45 a 55% de carboidratos totais (com 14g de fibras

totais a cada 1.000 kcal); entre 15 a 20 % de proteínas; até 30% dos lipídios totais; os ácidos graxos monoinsaturados devem complementar os lipídios totais, enquanto que os ácidos graxos saturados e poliinsaturados devem ser limitados a 7% e 10% da dieta, respectivamente.

Pacientes com DM1 relatam preferência por alimentos doces e/ou ricos em gorduras (Lipsky *et al*., 2012; Nanseel *et al*., 2012). No entanto, os pacientes entendem que possuem restrição quanto ao consumo de alimentos contendo açúcar (Souto *et al*., 2014; Davison *et al*., 2014), assim, tendem a preferir alimentos ricos em gorduras porque os lipídios dietéticos influenciam minimamente a glicemia pós-prandial (Helgeson *et al*., 2006; Souto *et al*., 2014).

No entanto, a dietas hiperlipídicas estão associadas ao ganho de peso corporal e doenças cardiovasculares em pacientes com DM1 (Sarnblad *et al*., 2006; Maffeis e Pinelli, 2008) e DM2 (Storlien *et al*., 2000; Coppell *et al*., 2010).

Dietas hiperproteicas também não devem são recomendadas porque o metabolismo proteico requer maior filtração glomerular e pode ocasionar complicações renais (Brenner *et al*., 1982; Rudberg *et al*., 1988; ADA, 2014; 2015b; SBD, 2015).

As fibras solúveis (pectinas, gomas, mucilagens e algumas hemiceluloses) formam um gel em contato com a água, retardando o esvaziamento gástrico e o tempo do trânsito intestinal, contribuindo para a saciedade e diminuindo a absorção de glicose e colesterol (Bornet *et al*., 2007).

O plano alimentar deve estar distribuído em duas grandes refeições (almoço e jantar) e quatro pequenos lanches (desjejum, colação, lanche da tarde e ceia), respeitando as preferências, estilo de vida e considerando o tratamento medicamentoso (SBD, 2015).

3.2. Recomendações de carboidratos para indivíduos com diabetes mellitus tipo 1

Nas últimas décadas, as recomendações dietéticas passaram por diversas modificações em relação ao uso dos carboidratos (Geil, 2008).

A expectativa de vida dos pacientes com DM1 era bastante reduzida antes da comercialização da insulina produzida em laboratório (Rosenfeld, 2002). Com o intuito de tentar prolongar o tempo de vida, Frederick Allen e Elliott Joslin desenvolveram uma dieta denominada de "*dieta de inanição*" que continha apenas 1.200kcal e 10g de carboidratos por dia (Allen, 1915). Nesta condição de restrição de carboidratos, a fonte energética destes pacientes era proveniente do catabolismo muscular e beta-oxidação, o que gerava elevada produção de corpos cetônicos e, consequentemente, cetoacidose (Westman, 2002).

Durante muito tempo, os carboidratos foram evitados porque, no período pós-prandial, são os nutrientes que mais afetam a glicemia. Este macronutriente é totalmente hidrolisado à glicose em 15 minutos a duas horas após sua ingestão, enquanto que apenas 35 a 60% das proteínas e 10% dos lipídios são convertidos em glicose após três e cinco horas, respectivamente (Bornet *et al*., 2007; Gillespie *et al*., 1998; SBD, 2015).

Em 1981, pesquisadores da Universidade de Toronto (Canadá) realizaram diversos estudos para agrupar os alimentos com base em sua resposta glicêmica, sendo propostos os termos índice glicêmico (IG) e carga glicêmica (CG) para classificar os alimentos com base na capacidade em elevar a glicemia. O IG é definido como a área abaixo da curva de resposta glicêmica duas horas após a ingestão de uma porção de 50g de um alimento em relação à mesma porção do alimento considerado padrão (50g de pão branco ou glicose). A fórmula para o cálculo é IG = área abaixo da curva glicêmica do alimento ÷ área correspondente ao alimento controle x 100. O IG pode variar de 1 a 100, sendo classificado como baixo IG (valor inferior a 55), moderado IG (valor entre 55 e 69) e alto IG (valor superior a 70) (Jenkins *et al*., 1981; Foster-Powell *et al*., 2002).

A CG é calculada com base no resultado do IG, e no total de carboidratos disponíveis na refeição. O cálculo é feito pela fórmula: CG = porção do carboidrato disponível x IG ÷ 100. Como a CG avalia não só a qualidade, mas a quantidade do carboidrato a partir de uma determinada porção consumida, a CG oferece um valor mais realista do efeito glicêmico de diferentes porções alimentares (Jenkins *et al*., 1981; Foster-Powell *et al*., 2002). A classificação da mesma é de CG baixa (inferior a 10), CG média (entre 11 e 19) e CG alta (superior a 20) (Foster-Powell *et al*., 2002).

Apesar de Jenkins *et al* (1981), afirmarem que somente alimentos com baixo IG (inferior a 55) ou moderado (55 a 69) IG deveriam ser utilizados por pacientes com DM (Jenkins *et al*., 1981; Foster-Powell *et al*., 2002), devemos considerar que vários fatores podem alterar o IG do alimento ou a CG da refeição. Como exemplo, a gordura e a proteína lentificam a velocidade de esvaziamento gástrico, retardando a elevação da glicemia. A presença de fibras solúveis no alimento aumenta o tempo de contato do carboidrato com a superfície de absorção intestinal, enquanto que as fibras insolúveis diminuem esse tempo de contato, resultando ambas em menor IG devido à diminuição da sua resposta glicêmica pós-prandial. O tempo e forma de cocção dos alimentos pode alterar o IG, porque, quanto mais gelatinizado é o amido, maior é o IG do alimento devido à disponibilização do carboidrato para absorção (Daly *et al*., 2000; Pi-Sunyer, 2002).

A dificuldade para a aceitação da dieta do IG em longo prazo é outra desvantagem, pois há uma lista limitada de alimentos com os seus respectivos IG, sendo difícil seu segmento em longo prazo (Vega-Lopez *et al*., 2007).

Os resultados do estudo intitulado *The Canadian Trial of Carbohydrates in Diabetes* (Wolever *et al*, 2008), fizeram com que a *American Diabetes Association* (ADA, 2014; 2015b) concluisse que o uso do IG e CG fornece benefício modesto ao tratamento do DM e

passou a recomendar a prescrição dietética por meio do método da contagem de carboidratos para flexibilizar a alimentação.

O método da contagem de carboidratos foi criado na Europa em 1935, começando ser utilizado somente na década de 1990 pelo *The Diabetes Control and Complication Trial*. O comitê da *American Diabetes Association* passou a recomendá-lo, em 1994, para flexibilizar a alimentação e permitir que este macronutriente seja ingerido de forma adequada, não afetando o controle da glicemia (Franz *et al*., 1994; DCCT, 1993).

O método consiste em calcular a quantidade (gramas) de carboidratos que será ingerida em cada refeição com o objetivo de ajustar a dose de antidiabético ou insulina a ser administrada. Assim, o paciente com DM poderia incluir o açúcar no seu plano alimentar desde que o mesmo fosse contabilizado no total de carboidratos de seu plano alimentar (Lopes Souto e Lopes Rosado, 2010; Souto e Rosado, 2009; ADA, 2014; SBD, 2015).

As principais vantagens do método incluem o melhor controle da glicemia (devido às correções por meio da insulina ou antidiabético, com base na monitorização da glicemia capilar somada ao total de carboidratos da refeição) e permitir a flexibilidade alimentar com consequente melhor aceitação da doença e da dieta pelo paciente (SBD, 2009; Souto *et al*, 2013; ADA, 2014).

Apesar de carboidratos poderem ser “compensados” com doses adicionais de insulina, a ingestão de carboidratos simples não deve superar 10% do total de carboidratos prescritos (SBD, 2015) para não ocasionar ganho de peso corporal e/ou hipertrigliceridemia (trumbo *et al*, 2002; ADA, 2014).

3.3. Considerações sobre o uso de açúcares e edulcorantes não calóricos

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, adoçantes são substâncias que conferem sabor doce aos alimentos, enquanto que edulcorantes são a matéria prima dos adoçantes. Estes podem ser classificados de acordo com a sua origem (natural ou artificial/sintético) ou pela presença de calorias (calóricos ou não calóricos) (Brasil, 2015).

Os edulcorantes não calóricos compartilham com a sacarose a propriedade de interagir com receptores gustativos e produzem a percepção do sabor doce. Assim, os alimentos destinados à indivíduos com DM são adoçados com edulcorantes não calóricos (Gardner *et al*., 2012).

Atualmente, há um edulcorante natural (esteviosídeo) e cinco edulcorantes sintéticos não calóricos (acesulfame-k, aspartame, neotame, sacarina e sucralose) aprovados pelo *Food and Drugs Administration* (FDA). Para que haja liberação do uso dos edulcorantes e sua aceitação por parte dos consumidores é necessário que apresentem as seguintes características: comprovação de segurança pelo FDA; poder adoçante igual ou superior ao da sacarose; ausência de cor e de odor; facilidade de diluição; compatibilidade química com outros aditivos e demais componentes dos alimentos; custo competitivo em relação a outros edulcorantes; estabilidade química e térmica; e características sensoriais agradáveis (Gardner *et al*., 2012). As características dos edulcorantes não calóricos estão listados no quadro 2.

Quadro 2 - Edulcorantes não calóricos aprovados pela *Food and Drug Administration*

Edulcorante	**Origem**	**Poder adoçante***	**Estabilidade térmica**	**Sabor residual**	**IDA****
Acessulfame-k	Sintético. Derivado de ácido acético.	200	Sim	Não	9 a 15
Aspartame	Sintético. Combina L-aspartato e L-fenilalanina.	200	Sim	Não	40
Estéviosídeo	Natural. Extraído da *Stevia rebaudiana*.	300	Sim	Sim	5,5
Neotame	Sintético. Derivado da fenilalanina e ácido aspártico.	< 0,45	Sim	Não	2
Sacarina	Sintético. Derivado do petróleo	400	Sim	Sim	5
Sucralose	Sintético. Feito a partir da sacarose.	600	Sim	Não	15

Legenda: *Poder adoçante comparado à sacarose; **IDA, ingestão diária aceitável (mg/kg de peso corporal/dia).

Fonte do quadro: adptado de USDA, 2000; Gardner *et al*., 2012.

A sacarina é o mais antigo edulcorante, sendo sintetizada a partir da substância que aparece naturalmente nas uvas, o metilantranilato. É cerca de 300 vezes mais doce que a sacarose. Apesar de ser estável ao calor, apresenta sabor residual metálico/amargo. Como não é metabolizada no sistema digestivo humano, é excretada rapidamente pela urina. A ingestão diária aceitável (IDA) é de 5 mg/kg de peso corporsal/dia para adultos (USDA, 2000).

O aspartame é obtido a partir de dois aminoácidos (L-aspartato e L-fenilalanina) e sua metabolização no organismo humano dá origem ao ácido aspártico, fenilalanina e metanol, sendo contraindicado para pacientes com fenilcetonúria. Apesar de fornecer 4 kcal/g, é cerca de 200 vezes mais doce que a sacarose, sendo necessárias quantidades muito pequenas para atingir o sabor desejado. A IDA é de 40 mg/kg de peso corporal/dia (USDA, 2000).

O neotame é derivado da fenilalanina e do ácido aspártico, possuindo um poder adoçante de 7.000 a 13.000 vezes mais doce que a sacarose. É parcialmente absorvido no intestino delgado e rapidamente metabolizado e excretado nas fezes e urina. Uma quantidade insignificante de metanol é liberada durante a metabolização do neotame e menos de 20% da

fenilalanina originada da ingestão deste é liberada no plasma, o que permite a utilização por indivíduos fenilcetonúricos. A IDA é de 2 mg/kg de peso corporal/dia (USDA, 2000).

A sucralose é um derivado da sacarose, obtido pela substituição de três grupos hidrogênio-oxigênio na molécula de açúcar por três átomos de cloro. Como não é metabolizada pelo organismo, não fornece calorias. É cerca de 400 a 800 vezes mais doce que a sacarose, sendo estável em altas temperauras. A IDA é de 15 mg/kg de peso corporal/dia (USDA, 2000).

O acesulfame-K é um sal constituído de carbono, nitrogênio, oxigênio, hidrogênio, enxofre e potássio. Possui estabilidade ao calor e é cerca de 200 vezes mais doce que a sacarose. Não é metabolizado pelo organismo humano, sendo eliminado totalmente pela urina. A IDA é de 15 mg/kg de peso corporal/dia (USDA, 2000; Gardner *et al*., 2012).

Esteviosídeo é um edulcorante natural, obtido da planta *Stevia rebaudiana*. É cerca de 300 vezes mais doce do que a sacarose, contendo um sabor residual amargo de mentol, e às vezes metálico. Não é metabolizado pelo organismo, sendo quase totalmente eliminado na urina. A IDA é de 5,5 mg/kg de peso corporal/dia (USDA, 2000; Gardner *et al*., 2012).

O sabor residual amargo ou adstringente é um fator que reduz a aceitação de alguns edulcorantes. Como exemplo, a sacarina é utilizada em alimentos devido a sua versatilidade e estabilidade térmica, contudo, possui sabor residual amargo quando adicionada em concentrações elevadas. Outro fator que deve ser considerado é a termoestabilidade, havendo edulcorantes que podem ser utilizados em preparações culinárias (exemplos: sacarina, ciclamato, sucralose), enquanto que outros não possuem estabilidade térmica (exemplo: aspartame) (Vieira e Cornélio, 2007; Freire, 2010; Boff *et al*., 2011)

O uso combinado de edulcorantes (exemplo: ciclamato + sacarina) é utilizado pela indústria para mascarar o sabor residual e melhorar a estabilidade, aumentando a validade do produto. Também, permite que a quantidade de cada um dos edulcorantes usados permaneça

abaixo dos valores realtivos à IDA dentro dos limites legais (Vieira e Cornélio, 2007; Boff *et al*., 2011).

Como os atributos sensoriais (tais como a cor, sabor e textura ou consistência) são os fatores que mais influenciam na aquisição de um produto, a indústria utiliza os edulcorantes não calóricos para a formulação de "alimentos para fins especiais". Estes alimentos dizem respeito aos especialmente formulados ou processados, que apresentam modificações no seu conteúdo de nutrientes, de modo que não são adequados à utilização em dietas diferenciadas e/ou opcionais, atendendo às necessidades de pessoas em condições metabólicas e fisiológicas específicas. Os alimentos dietéticos enquadram-se na categoria de "alimentos para fins especiais" e não devem conter ingredientes/nutrientes específicos, como por exemplo, açúcar, gordura e/ou sódio (Brasil, 2015). A retirada de um dos ingredientes implica na sua substituição por outro a fim de conferir palatabilidade semelhante ao produto tradicional, o que significa que um alimento diet nem sempre apresenta valor calórico reduzido (Vietra e Cornélio, 2007).

Assim, a indústria alimentícia prefere utilizar os "açúcares de adição" para produzir alimentos tradicionais, objetivando melhorar a palatabilidade, viscosidade, textura, cor e durabilidade do produto final. Os mais utilizados são: sacarose (açúcar refinado ou mascavo), xarope de milho rico em frutose, mel e melaço (USDA, 2000; Brasil, 2005).

A sacarose é o dissacarídeo mais utilizado na alimentação, sendo constituída quimicamente pela ligação glicosídica entre uma molécula de glicose e outra de frutose. As matérias primas empregadas para a produção de açúcar industrial são a cana de açúcar e a beterraba (Brasil, 2005).

A frutose e a glicose podem ser encontradas em fontes naturais ou artificiais. Apesar das frutas e vegetais conterem frutose, a sua maior fonte alimentar é como adoçante, adicionado às preparações (Havel, 2005). O xarope de milho rico em frutose é obtido por meio da enzima

glicoseisomerase, que isomeriza parte da glicose existente no milho. Este adoçante pode ser produzido obtendo-se diferentes razões de frutose/glicose, sendo os produtos mais utilizados em refrigerantes, panificações, enlatados, geléias, compotas e lacticínios os que contêm percentuais de frutose de 42%, 55% ou 90% em relação às quantidades de glicose de 58%, 45% e 10%, respectivamente (Hanover e White, 1993).

3.4. Digestão, absorção e metabolismo dos carboidratos

Os carboidratos são classificados em mono-, di- ou polissacarídeos dependendo do número de carbonos em sua cadeia. Os monossacarídeos incluem glicose, frutose, galactose e sorbitol, dissacarídeos incluem a sacarose (constituída por 1 molécula de glicose e 1 de frutose), lactose (com 1 molécula de glicose e 1 de galactose) e maltose (formada por 2 moléculas de glicose), enquanto que os principais polissacarídeos da dieta são amidos e fibras (Cummings e Stephen, 2007).

O amido é um polissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina. A amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas alfa-1,4, originando uma cadeia linear. Já a amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em alfa-1,4 e alfa-1,6, formando uma estrutura ramificada. Essas ligações precisam ser rompidas para que ocorra a adequada digestão do amido (Segal *et al*., 2007).

As fibras alimentares podem ser classificadas em solúveis e insolúveis, de acordo com a sua solubilidade em água. Ambas têm como características comuns não serem digeridas no intestino delgado por serem formadas por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas beta-1,4 (Brennan, 2005; Cummings e Stephen, 2007).

As fibras alimentares também podem ser classificadas como fermentáveis ou não-fermentáveis. A fermentação é realizada por bactérias do cólon, ocasionando produção de ácido lático, ácidos graxos de cadeia curta e gases, com consequente redução do pH do lúmen intestinal e estimulo à proliferação de células epiteliais do cólon (Cummings e Stephen, 2007).

Geralmente, as fibras solúveis são fermentadas rapidamente e as fibras insolúveis são parcialmente fermentadas. Apesar disso, a fermentação das fibras solúveis depende de sua estrutura física e química (Cummings e Stephen, 2007).

Com a classificação das fibras em fermentáveis ou não-fermentáveis, a inulina e os frutooligossacarideos passam a ser considerados fibras solúveis fermentáveis (Cummings e Stephen, 2007).

Mesmo apresentando estruturas diferentes, carboidratos complexos e simples possuem digestão semelhante: 1º) na boca a enzima amilase salivar (secretada pelas glândulas parótidas) promove a ruptura das ligações glicosídicas alfa-1,4 da amilose, originando a amilose e amilopectina. As ligações alfa-1,6 da amilopectina também são rompidas, gerando moléculas de dextrinas; 2º) no duodeno, a amilase pancreática hidrolisa os polissacarídeos à dissacarídeos (maltose, sacarose e lactose); 3º) por último, na mucosa intestinal, as dissacaridases (maltase, sacarase e lactase) hidrolisam os dissacarídeos a monossacarídeos (Cummings e Stephen, 2007). Desta forma, embora carboidratos complexos necessitem de maior hidrólise enzimática comparados aos simples, ambos são absorvidos como monossacarídeos após ação das dissacaridades intestinais (Segal *et al*., 2007).

A frutose penetra no enterócito intestinal por meio de transportadores específicos não-dependentes de insulina (GLUT-5). De outro modo, o processo de transporte da glicose para o interior do enterócito ocorre contra gradiente de concentração, sendo dependente de íons de sódio. O gradiente eletroquímico do sódio é gerado pela bomba de sódio-potássio. A bomba de sódio-potássio funciona de forma que a hidrólise de adenosina tri-fosfato (ATP) estimula a entrada de potássio, do meio extracelular para o citosol celular, e a saída de sódio para o meio extracelular, despolarizando a membrana. Devido à elevada concentração de sódio no exterior da célula, o transportador de glicose sódio-dependente (SGLT1), localizado na membrana apical do enterócito, liga-se a dois íons de sódio e a uma molécula de glicose transportando-os na mesma direção para o interior celular (Havel, 2005).

Todos os monossacarídeos saem do enterócito para a circulação sanguínea por meio do transporte facilitado de glicose independente do sódio (GLUT-2) (Thorens e Mueckler,

2010), sendo o GLUT-2 encontrado nos hepatócitos, nas membranas basolaterais das células epiteliais, renais e intestinais, e nas ilhotas pancreáticas (Cura e Carruthers, 2012).

A entrada da frutose nas células dos tecidos adiposo e músculo esquelético ocorre sem a necessidade de insulina (por intermédio do GLUT-5), enquanto que a glicose penetra nestas células por meio de proteínas transportadoras de glicose insulinodependentes (GLUT-4). O GLUT-4 está presente nas vesículas intracelulares e precisa ser translocado para a membrana celular por estimulação da insulina (Cummings e Stephen, 2007).

O transporte da glicose para o interior celular dos tecidos insulino-dependentes, por intermédio do GLUT-4, somente ocorre na presença de insulina (Havel, 2005). Devido à ausência de insulina no DM1, há acúmulo de glicose no meio extracelular destes indivíduos, acarretando em hiperglicemia (SBD, 2015).

Em indivíduos saudáveis, a insulina liga-se a um receptor específico de membrana, com atividade quinase intrínseca. O receptor de insulina (IR – *insulin receptor*) é formado por duas subunidades alfa localizadas nas parte externa da membrana celular e duas subunidades beta transmembranares. Uma vez ligada a subunidade alfa, a insulina estimula a autofosforilação da região intracelular beta do receptor. A autofosforilação do IR ativa a fosforilação da família dos substratos do IR (IRS – *insulin receptor substrate*), os membros IRS-1,2,3,4,5. O IRS-1 e o IRS-2, fosforilados em tirosina, ativam a *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3-quinase). Esta é um dímero composto de uma subunidade catalítica (p110), uma subunidade regulatória (p85) e que contém dois sítios (SH2 e SH3). Quando o IR-1 está fosforilado em tirosina, associa-se ao domínio SH2 da sub-unidade regulatória da PI3-quinase, levando à ativação desta enzima, catalisando a fosforilação do fosfatidilinositol, do fosfatidil-inositol-4-fosfato e do fosfatidilinositol-4,5-difosfato, com consequente estimulação do transporte de glicose. A ligação da IRS-2 à subunidade p85 da PI3-quinase também produz

a fosforilação de uma serina quinase denominada Akt, que encontra-se ligada às vesículas contendo o GLUT-4 (Patti; Kahn, 1998).

Outros sinais também são necessários para que a insulina estimule o transporte de glicose: a insulina estimula ou inibe a degradação de proteínas por meio da ativação da *mammalian target of rapamycin* (mTOR). A mTOR controla a translocação de proteínas por meio da fosforilação da p70-ribossomal S6 quinase e também por meio da fosforilação da *phosphorylated heat-stable and acid-stable protein* (PHAS1), que estimulam a translocação de várias proteínas e ativam o deslocamento das vesículas intracelulares para a superfície celular, onde o GLUT-4 funde-se com a membrana plasmática (Patti; Kahn, 1998).

Na ausência de insulina, caso do paciente com DM1 que não está insulinizado, o GLUT-4 é encontrado nas membranas intracelulares e não na membrana plasmática, portanto, não é capaz de difundir a glicose para o interior da maioria das células, a exceção dos hepatócitos e neurônios (Machado, 1998).

A prática de atividades físicas melhora a captação da glicose pelas células. Isto ocorre porque o exercício potencializa o efeito da insulina na fosforilação em serina da Akt e na fosforilação do IRS-2, com estímulo à atividade da PI3-quinase (Howlett *et al*., 2002).

Durante a atividade física, ocorre também estímulo da translocação de GLUT-4 devido ao aumento intracelular de cálcio. No momento em que ocorre a despolarização, fundamental para que haja interação entre os filamentos de actina e miosina, ocorre liberação do cálcio do retículo endoplasmático liso, que também atua como mediador do transporte de glicose (Ribeiro *et al.*, 2011).

Outro fator que pode alterar a captação da glicose é o índice de massa corporal (IMC), mais especificamente o grau de adiposidade do indivíduo. A elevada presença de ácidos graxos livres na região abdominal, pode causar a redução da disponibilidade de glicose para o tecido adiposo e muscular devido à reduzida ativação da via de sinalização, resultando em

menor translocação do GLUT-4 (Carvalheira *et al*,, 2002). Essa resistência à translocação do GLUT-4 é mais frequente no DM2, porém, pode ocorrer em pacientes com DM1 com excesso de peso corporal (SBD, 2015).

Além dos citados, existem outras isoformas da família dos transportadores de glicose (Cura e Carruthers, 2012). Como cada célula expressa uma demanda diferenciada, há tecidos que apresentam dois ou mais diferentes tipos de GLUTs. Como exemplo, os transportadores de glicose do tipo 1 (GLUT-1) são expressos nas hemácias, rins e na barreira hemato-encefálica. O transportador de glicose do tipo 3 (GLUT-3), pode ser encontrado na placenta, testículos e neurônios. Para que o transporte mínimo de glicose seja mantido a estes tecidos/células, tanto o GLUT-1 como o GLUT-3 agem independentemente da presença de insulina. Do contrário, a hipoglicemia poderia comprometer a função cerebral ou a oferta de glicose para o feto e células sanguíneas (Thorens *et al.*, 1990; Hediger e Rhoads, 1994). No quadro 3 estão listados os principais transportadores.

Quadro 3 - Locais de expressão e principais funções das proteínas transportadoras de glicose

GLUT-1	Células sanguíneas, barreira hematoencefálica e rins. Permite o transporte basal de glicose, sem a necessidade de insulina.
GLUT-2	Hepatócitos, células beta pancreáticas membrana basolateral de células epiteliais do intestino delgado e túbulo rena, astrócitos de núcleos cerebrais. Possui alta capacidade, conferindo capacidade de detecção da glicose à célula onde está expresso.
GLUT-3	Neurônios, placenta e testículos. Permite a captação de glicose não mediada por insulina
GLUT-4	Músculo esquelético e cardíaco, tecido adiposo marrom e branco. Permite a captação de glicose, quando estimulado pela ação da insulina.
GLUT-5	Intestino delgado e testículos. Transportador de frutose.
GLUT-6	Pseudo gen que não se expressa funcionalmente
GLUT-7	Fração microssomal de células hepáticas. Associado ao complexo enzimático glicose-6-difosfato, possibilitando a liberação de glicose no retículo endoplasmático
SGLT-1	Borda em escova das células epiteliais do duodeno jejuno e segmento S3 do túbulo proximal do néfron
SGLT-2	Borda em escova das células epiteliais do segmento S1 do túbulo proximal do néfron.

Fonte do quadro: adptado de Thorens *et al*., 1990; Hediger e Rhoads, 1994.

Durante o período pós-prandial, ocorre a digestão e a absorção dos nutrientes, sendo uma parte utilizada para obtenção de energia, outra armazenada na forma de glicogênio (hepático e muscular) e/ou na forma de triglicerídeos (Murray *et al*., 2013).

O fígado é o órgão central da manutenção da homeostase de carboidratos. O armazenamento de glicogênio deve-se à estimulação da glicogênese, sendo esta composta de três reações: 1) a glicose-6-fosfato é convertida em glicose-1-fosfato por ação da enzima glicomutase; 2) é adicionado um trifosfato de uracila (UTP) e a glicose fica ligada ao difosfato de uracila (UDP), o qual será liberado no momento em que a glicose vai se ligar à cadeia de glicogênio ainda não-ramificado; 3) a enzima ramificadora transfere um fragmento de 6 a 7 glicoses à extremidade não-redutora da cadeia para o grupo OH do carbono 6 de uma glicose, formando a ligação alfa(1→6), que será o ponto da ramificação (Voet; Voet, 2013).

A síntese de triglicerídeos ocorre quando a razão insulina/glucagon estiver elevada. Os triglicerídeos são sintetizados ao se adicionar acil-CoA graxo ao glicerol-3-fosfato ou à diidroxiacetona-fosfato. O glicerol-3-fosfato é produzido no tecido adiposo pela redução da di-hidroxiacetona fosfato, intermediária da via glicolítica. Assim, novas moléculas de triglicerídeos podem ser armazenadas (Voet; Voet, 2013).

No período de jejum, a glicogenólise é ativada e o fígado passa a exportar a glicose que havia armazenado sob a forma de glicogênio. Nesse caso, o glicogênio é disponibilizado para a via glicolítica por meio da clivagem das ligações entre as unidades de glicose armazenadas liberando assim a glicose. A clivagem ocorre sempre na extremidade não redutora da cadeia e o rompimento das ligações alfa(1→4) ocorre por fosforilação, liberando glicose-1-fosfato. Essas unidades de glicose são removidas até restarem quatro resíduos a partir do ponto de ramificação alfa(1→6). Nesse caso três desses resíduos são transferidos para a extremidade não redutora de outra ramificação, ficando apenas um resíduo com a ligação alfa(1→6). Para clivagem dessa ligação ocorre a hidrólise pela enzima

desramificadora, resultando também em glicose-1-fosfato, liberada para os tecidos (Voet; Voet, 2013).

A síntese do glicogênio é regulada pela enzima glicogênio-sintase e a clivagem pela glicogênio-fosforilase. Estas enzimas são reguladas pelos hormônios insulina, glucagon e adrenalina ou por estímulos nervosos (Murray *et al*., 2013).

Como há reserva limitada de glicogênio hepático, após algumas horas a gliconeogênese é ativada. A gliconeogênese é a síntese de glicose a partir de precursores não carboidratos. Isso acontece no período longo de jejum ou durante exercícios físicos intensos, onde não há mais glicose disponível e nem glicogênio. O piruvato, lactato, glicerol e a maioria dos aminoácidos podem servir como fontes para a gliconeogênese. A gliconeogênese ocorre pelo estímulo do glucagon e é simultânea a glicogenólise hepática. Enquanto houver glicogênio, a velocidade da gliconeogênese é pequena, no entanto, esta via ocorrerá em velocidade máxima após a exaustão do glicogênio hepático. Assim, durante o jejum prolongado, a glicemia é mantida somente pela gliconeogênese (Murray *et al*., 2013).

O glicogênio muscular somente fornece energia para o próprio músculo, pois há ausência da enzima glicose-6-fosfatase nas células musculares, de tal modo que a glicose liberada pelo glicogênio muscular mantenha-se fosforilada e seja incapaz de ser transportada para fora da célula (Murray *et al*., 2013).

A glicólise é a via central do catabolismo da glicose e ocorre no citosol da célula. Durante a glicólise, cada molécula de glicose é convertida em duas moléculas de piruvato, cada uma com três átomos de carbono em um processo no qual vários átomos de carbono são oxidados. Parte da energia livre liberada da glicose é conservada na forma de ATP e de nicotinamida adenina dinucleótido hidreto (NADH). O resultado do processo total da glicólise é a formação de 2 ATP, 2 NADH e 2 piruvato, às custas de uma molécula de glicose. (Voet; Voet, 2013).

Em condições de baixo suprimento de oxigênio (hipóxia) ou em células sem mitocôndrias, o produto final da glicólise é o lactato e não o piruvato, em processo denominado glicólise anaeróbica. Quando o suprimento de oxigênio é adequado, o piruvato é transformado em acetil−CoA nas mitocôndrias e o grupo acetil da acetil−CoA é totalmente oxidado no ciclo de Krebs com a formação de duas moléculas de CO_2 (Voet; Voet, 2013).

Durante exercícios de alta intensidade, a velocidade da glicólise é maior do que a do ciclo de Krebs no músculo esquelético. Assim, parte do piruvato será convertido à lactato e este é captado pelo fígado, tornando-se substrato para a gliconeogênese. Com esta situação, o músculo utiliza glicose e produz lactato, sendo o lactato carreado ao fígado para ser novamente convertido em glicose. Este é conhecido como ciclo de Cori (Voet; Voet, 2013).

O ciclo de Krebs é o estágio final da oxidação dos combustíveis metabólicos. Os átomos de carbono entram no ciclo na forma de grupos acetila derivados dos carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos. O grupo acetil-CoA é oxidado em oito reações mitocondriais para formar duas moléculas de CO_2 com a conservação da energia livre liberada em três moléculas de NADH, uma de hidrogênio flavina adenina dinucleotídeo ($FADH_2$) e um composto de guanosina trifosfato (GTP) ou ATP. O NADH e o $FADH_2$ são oxidados e os elétrons são conduzidos pela cadeia mitocondrial transportadora de elétrons com a liberação de energia conservada na forma de ATP sintetizado a partir de ADP e fosfato livre por meio de processo denominado fosforilação oxidativa (Voet; Voet, 2013).

Em resposta ao jejum e aos exercícios vigorosos, os triglicerídeos podem ser hidrolizados em uma molécula de glicerol e três ácidos graxos. Na matriz mitocondrial o ácido graxo sofre a ação da enzima acil-CoA-sintase, que na presença de HS-CoA e utilizando o ATP transforma-se em acil-CoA. O acil-CoA vai para a membrana mitocondrial externa, porém é impermeável à membrana interna. Para superar este obstáculo liga-se à carnitina, formando acil-carnitina que atravessa a membrana mitocondrial interna, onde sofre o processo

de transformar-se novamente em acil-CoA liberando a carnitina que retorna à membrana mitocondrial externa. Uma vez na matriz mitocondrial, ocorre a oxidação em uma sequência de ações que se repetem produzindo acetil-CoA e liberando energia. A acetil-CoA pode entrar no ciclo de Krebs para seguir a cadeia respiratória ou seguir para a produção de corpos cetônicos (cetogênese) (Voet; Voet, 2013).

A cetogênese resulta na formação de acetoacetato, beta-hidroxibutirato e acetona, sendo estes compostos usados pelos tecidos periféricos por indivíduos saudáveis em condições de jejum prolongado (Murray *et al*., 2013). Na ausência de insulina (caso dos pacientes com DM1), a beta-oxidação dos ácidos graxos é acelerada porque há mais acetil-CoA que o necessário. Assim, falta o CoA para realizar novas beta-oxidações e o organismo doa o grupo acetil para a cetogênese. Esse fato resulta na formação de acetoacetato, beta-hidroxibutirato e acetona além do necessário, sendo possível perceber-se no sangue, urina e no chamado “hálito cetônico” (Murray *et al*., 2013).

3.5. Influência da frutose e da glicose na glicemia

Comparada à sacarose, a frutose possui poder adoçante superior e proporciona menores concentrações glicêmicas pós-prandiais (Bantle, 1989; Gerrits e Tsalikian, 1993; Bantle, 2009) devido a sua menor capacidade de absorção intestinal, em comparação a outros carboidratos (Wolever e Miller, 1995)

A entrada da frutose nas células é prejudicada pela deficiência de transportadores GLUT-5 (Havel, 2005). Embora o GLUT-5 esteja presente no músculo esquelético e tecido adiposo (Mayes, 1993), grande parte do monossacarídeo é removido do plasma para o sistema hepático por meio da circulação portal (Havel, 2005).

No fígado, a frutose é fosforilada em frutose-1-fosfato, por ação da enzima frutoquinase. Posteriormente, o composto sofre ação da enzima aldolase-beta, gerando uma molécula de diidroxiacetona fosfato e uma molécula de gliceraldeído-3-fosfato. Somente parte do carbono derivado da triose fosfato participa da gliconeogênese e origina glicose, portanto, a frutose induziria menor elevação da glicemia quando comparada à glicose ou à sacarose (Smith Jr *et al*., 1953).

Apesar de ser absorvida por transporte passivo, a ingestão simultânea de glicose eleva a capacidade de absorção intestinal da frutose (Bantle, 1989; Bantle, 2009) porque dois sítios das dissacaridases precisam ser ocupados por dois monossacarídeos a fim de desencadear o mecanismo de transporte ativo intestinal (Riby *et al*., 1993).

A concentração de frutose sérica em indivíduos saudáveis geralmente é inferior a 1mg/dL (Macdonald *et al*., 1978). No entanto, após 30-60 minutos da ingestão deste monossacarídeo, a concentração sérica de frutose eleva significativamente de forma dose-dependente, podendo variar de 4,5 a 13mg/dL após ingestão de soluções contendo entre 18 a 100g de frutose. Após 90 minutos da ingestão, a concentração sérica de frutose reduz, retornando ao observado no jejum (Macdonald *et al*., 1978; Bohannon *et al*., 1980).

Estudos não demonstraram efeito pós-prandial prejudicial quando ofereceram pequenas doses de frutose para indivíduos saudáveis (Swanson *et al*., 1992; Heacock *et al*., 2002; Sievenpiper *et al*., 2012), pacientes com DM2 (Moore, 2000) ou pacientes com DM1 (Gabriely *et al*., 2002). Esse fato é justificado porque, na ausência de glicose, a capacidade de absorção intestinal da frutose varia de 30 a 50g por refeição (Riby *et al*., 1993).

Salientamos que a ingestão de açúcares pode influenciar na progressão da destruição das células beta de pacientes com recente diagnóstico de DM1. A exposição a alimentos ricos em glicose pode induzir a episódios hiperglicêmicos frequentes, aumentando a necessidade de insulina e sobrecarregando a célula beta que já está sob ataque autoimune. Essa sobrecarga da célula beta pode acelerar a sua apoptose, tornando a célula beta mais ativa e assim mais perceptível ao sistema imunológico (Lamb *et al*., 2015).

Hiperglicemia e alteração de enzimas hepáticas foram observadas em indivíduos saudáveis que receberam soluções contendo 250g/dia de glicose por via parenteral durante 5-7 dias (Rosmarin *et al*., 1996; Kim *et al*., 2003). Porém, Abdulrhman *et al*. (2009) observaram que indivíduos saudáveis não apresentam hiperglicemia pós-prandial quando consomem, por via oral, soluções contendo glicose, sacarose ou mel em doses equivalentes a 1,75g/kg de peso corporal.

Pacientes com DM1 apresentam elevação significativa da glicemia 30 minutos após a ingestão oral de glicose, sacarose ou mel. Contudo a glicose e sacarose proporcionam maior elevação da glicemia comparadas ao mel (Samanta *et al*., 1985; Abdulrhman *et al*., 2009), sendo sugerido que o mel promove menor elevação da glicemia devido a presença de frutose em sua composição (Abdulrhman *et al*., 2009).

3.6. Influência da frutose e glicose na secreção de glucagon

Apesar da destruição autoimune ocorrer apenas em células beta, o indivíduo com DM1 pode apresentar desequilíbrio na homeostase da secreção de hormônios que são regulados pela secreção de insulina. Dentre estes, podemos citar: glucagon, estrogênio, leptina, hormônio de crescimento e peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) (Cryer, 1994; 2012; Fu *et al*., 2013).

O GLP-1 é um hormônio produzido pelas células L do íleo distal e cólon após a ingestão alimentar, que estimula a síntese de insulina pelas células beta e inibe a secreção de glucagon pelas células alfa (Issa e Azar, 2012). Essa ação é dependente das concentrações glicêmicas. Indivíduos com DM1 apresentam redução das concentrações de GLP-1 com consequente supressão anormal do glucagon em resposta à hiperglicemia, o que pode agravar a hiperglicemia pós-prandial (Dinneen *et al*., 1995; Ward *et al*., 2011; Cryer, 2012).

O glucagon é um hormônio polipeptídico, produzido nas células alfa-pancreáticas. O jejum prolongado, com consequente redução da glicemia, estimula a secreção de glucagon. Este hormônio atua na manutenção das concentrações de glicose por meio da ativação da glicogenólise e da gliconeogênese hepáticas (Wolfsdorf et al, 2006).

O glucagon também favorece a oxidação hepática de ácidos graxos e a formação de corpos cetônicos a partir de acetil-CoA. A cetoacidose, ocasionada pela hiperglicemia, está associada a elevação das concentrações de glucagon e outros hormônios contrarreguladores (ex: cortisol, catecolaminas e hormônio do crescimento). Em consequência, ocorre estímulo à gliconeogênese e liberação hepática de ácidos graxos e corpos cetônicos(Wolfsdorf et al, 2006).

Estudos demonstraram que indivíduos saudáveis apresentam elevação do glucagon tanto após a infusão intravenosa de frutose (Gabriely *et al*., 2002) como com a ingestão oral de solução contendo apenas frutose ou de frutose associada à glicose (Paquot *et al*., 1996).

Quando comparados à indivíduos saudáveis, pacientes com DM2 demonstraram maior elevação do glucagon pós-prandial após a ingestão oral de pequenas quantidades de frutose (0,3g/kg de peso corporal), sendo a elevação do hormônio positivamente associado à hiperglicemia (Paquot *et al*., 1996).

Estudos nas concentrações de glucagon pós-prandiais são escassos em pacientes com DM1. Embora estes pacientes apresentem concentrações de glucagon ligeiramente mais elevadas constantemente, tanto a secreção de glucagon como a relação insulina/glucagon é significativamente menor após a ingestão de refeição mista, comparados a indivíduos saudáveis (Hwang *et al*., 1995; Brown *et al*., 2008; Fredheim *et al*., 2015).

3.7. Influência da frutose e da glicose na lipemia

Em condições normais, a frutose pode ser convertida em glicogênio, lactato ou triglicerídeos e, embora não estimule a secreção de insulina, o consumo deste monossacarídeo provoca elevação sérica dos ácidos graxos livres e triglicerídeos, podendo ocasionar deposição de gordura no fígado e no músculo esquelético e estimular a produção hepática de glicose quando há ausência de insulina, promovendo elevação glicêmica (Bantle, 1989; Bantle, 2009). Devido à apoptose das células beta pancreáticas, a ausência de insulina é mais frequente em indivíduos com DM1, comparada aos com DM2, no entanto, pacientes com ambos os tipos de DM podem apresentar pequenas secreções de insulina por longos períodos (Greenbaum e Harrison, 2003; Palmer *et al*., 2004; Sacks *et al*., 2011a; b; Wang *et al*., 2012).

O metabolismo hepático da frutose favorece a lipogênese, porque este monossacarídeo é convertido a gliceraldeído-3-fosfato no fígado para entrar na via glicolítica. Como o metabolismo hepático é limitado pela capacidade em armazenar glicogênio, resultante da inibição da enzima fosfofrutoquinase pelo citrato e ATP, o consumo excessivo de frutose pode ocasionar saturação da via glicolítica, promovendo maior síntese de acetil-CoA e de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e triglicerídeos (Havel, 2005). Apesar do mecanismo exposto, revisões sistemáticas, incluindo indivíduos saudáveis (Chiavaroli et al., 2015) e pacientes com DM2 (Sievenpiper et al., 2009), mostram que a frutose não demonstra efeitos adversos sobre os triglicerídeos quando substituída por outros carboidratos complexos ou simples, atuando negativamente na lipemia quando a ingestão excessiva do monossacarídeo está associada a dietas hipercalóricas.

Dietas ricas em frutose também podem ativar enzimas lipogênicas hepáticas (frutoquinase, aldolase B e trioquinase) permitindo que a frutose entre mais rapidamente na via glicolítica, o que promove saturação do ciclo de *Krebs* com subsequente produção de lactato, ativação da enzima piruvato desidrogenase e predominância das vias oxidativas

levando à formação de dióxido de carbono e produção de corpos cetônicos. Ocorre também redução da oxidação e maior esterificação dos ácidos graxos livres, levando à síntese de VLDL e triglicerídeos e favorecendo a hipertrigliceridemia (Mayes, 1993). O DM pode agravar este efeito devido à insulinização inadequada ou a resistência à insulina, estimulando a síntese e reduzindo o *clearence* (remoção) dos triglicerídeos (Miller *et al*., 2011)

A frutose é mais lipogênica que a glicose também no estado pós-prandial, induzindo a hipertrigliceridemia e promovendo elevação das concentrações de VLDL e partículas pequenas e densas de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (Havel, 2005).

A influência aterogênica da VLDL está condicionada à proteína de transferência de éster de colesterol e a lipase hepática, promovendo maior síntese de LDL e reduzindo concentrações de lipoproteínas de alta densidade (HDL) (Taskinen, 2003; Huang *et al*., 2011). Porém, foi observado que o consumo de frutose, inferior a 10% do total energético diário, pode elevar significativamente as concentrações de triglicerídeos, sem qualquer mudança aparente na HDL ou LDL de pacientes com DM1 (Couch *et al*., 2013).

A conversão da glicose à acetil-CoA na via glicolítica ocorre por intermédio da enzima acetil-CoA carboxilase e esta enzima também estimula a lipogênese atuando na regulação da síntese de ácidos graxos por meio do fornecimento de malonil-CoA para a síntese de palmitato (ácido graxo contendo dezesseis carbonos) (Carvalheira *et al*., 2002).

A glicose também ativa a transcrição de genes lipogênicos (exemplos: *carbohydrate responsive element-binding protein* e *peroxisome proliferator-activated receptor-gamma*) e estimula a síntese de insulina, promovendo a captação de glicose pelas células adiposas (Saltiel e Kahn, 2001). No caso de indivíduos com DM1, a secreção do homônio não é estimulado, mas haverá necessidade de aplicação de maiores dosagens de insulina exógena para metabolização da glicose e controle glicêmico, produzindo assim o mesmo efeito sobre a lipogênese (SBD, 2015).

3.8. Influência da frutose e da glicose na uricemia

Ao contrário da glicose, a frutose entra na via glicolítica após a sua conversão à frutose-1-fosfato. A conversão requer a ativação da enzima frutoquinase, utilizando ATP na fosforilação da frutose e sequestrando fosfato livre para formação da frutose-1-fosfato, o que impede a oxidação e regeneração do ATP em adenosina di-fosfato (ADP). Como ATP e fosfato livre inibem a ação da adenina (proteína mitocondrial também conhecida como translocador ADP/ATP) ocorre a formação de ácido úrico (Mayes, 1993; Nakagawa *et al*., 2006; Ouyang *et al*., 2008). Ademais, o metabolismo hepático da frutose utiliza o óxido nítrico, modulador da síntese e produção de ácido úrico (Nakagawa *et al*., 2006; Angelopoulos *et al*., 2009; Johnson *et al*., 2010).

Podemos dizer assim que a frutose eleva as concentrações séricas de lactato, piruvato e ácido úrico tanto em indivíduos saudáveis (Stirpe *et al*., 1970) como em pacientes com DM descompensado (Bantle *et al*., 1992) porque a resistência à insulina, frequentemente observada no pré-diabetes, ocasiona elevada absorção de ácido úrico, e consequentemente menor excreção do mesmo (Waring *et al*., 2007).

A ingestão de glicose também eleva as concentrações pós-prandiais de ácido úrico em indivíduos com pré-diabetes (Fan *et al*., 2013) ou DM2 (Sinagra *et al*., 1982), porém, até o momento, não há na literatura estudos que tenham avaliado as concentrações de ácido úrico após a ingestão de açúcares por indivíduos com DM1.

Indivíduos com DM1 podem estar em normalidade quando estão em insulinização adequada, mas podem apresentar menores concentrações séricas de ácido úrico na hiperglicemia (Waring *et al.*, 2006), porque a hiperglicemia com glicosúria estimula a excreção renal de ácido úrico (Padova *et al*., 1964; Boner e Rieselbach, 1974).

Apesar da maioria dos indivíduos com DM1 apresentarem frequentemente menores concentrações de ácido úrico, comparados à indivíduos com DM2, ainda estão fortemente relacionadas ao desenvolvimento de complicações vasculares (Bjornstad *et al*., 2014).

Apesar de ser considerado antioxidante, o ácido úrico é também conhecido por ter propriedades pró-oxidativas (Sautin *et al*., 2007). Possivelmente, a hiperuricemia age como compensação para neutralizar danos oxidativos (Nieto *et al*., 2000). No entanto, a ativação da enzima xantina oxidase ocasiona aumento da produção dos radicais livres (Bergamini *et al*., 2009).

3.9. Influência da frutose e da glicose no estresse oxidativo

Os radicais livres são moléculas com um ou mais elétrons não pareados. Podem ser gerados no citoplasma, mitocôndrias ou membranas. Seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e ácido dexorribonucleico [DNA]) está relacionado com o seu sítio de formação (Anderson, 1996).

Em proporções adequadas, esses radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas (geração de ATP por meio da cadeia transportadora de elétrons, ativação de genes e participação de mecanismos de defesa durante o processo de infecção) (Anderson, 1996).

As principais espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs) estão descritas no quadro 4, sendo formadas durante a redução do oxigênio ou nitrogênio molecular, podendo ou não possuir elétrons desemparelhados (Anderson, 1996).

Quadro 4 - Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio

Ânion radical superóxido (O_2^-)	Gerado nas celulas por enzimas (ex: xantina oxidase) ou pela redução de oxigênio. O íon superóxido é o único radical que pode levar à formação de muitas outras espécies reativas, como o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxil.
Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)	Intermediário formado pela reação de dismutação de O_2 por ação da enzima superóxido dismutase, pela redução de dois elétrons na molécula de O_2 e pela ação de enzimas oxidases, localizadas nos peroxissomas. Capaz de atravessar camadas lipídicas.
Radical hidroxila (OH)	Bastante reativo. Pode ser formados a partir do ânion superóxido e peróxido de hidrogênio Causa modificação do DNA, danos nas proteína e peroxidação lipídica.
Radical peroxila (RO_2)	Formados durante a decomposição de peróxidos orgânicos e reações de carbono radicalar com oxigênio, como na peroxidação lipídica.
Oxigênio singlete (O_2^*)	Estado eletronicamente excitado do oxigênio, produzido por reações fotoquímicas ou por outras radiações. Reage com moléculas biológicas, iniciando processos de peroxidação.
Óxido nítrico (NO)	Sintetizado pela ação da enzima óxido nítrico sintase. É considerao um potente vasodilatador, envolvido na regulação da pressão arterial.

Fonte do quadro: adaptado de Vasconceloes *et al*., 2007.

O estresse oxidativo é o desequilíbrio entre a produção de EROs e ERNs e a capacidade antioxidante endógena. Um dos principais mecanismos de lesão é a lipoperoxidação, ou seja, a oxidação da camada lipídica da membrana celular. Esse processo conduz à oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra células, tecidos e ao DNA (Singh *et al*., 2001; Maritim *et al*., 2003).

Os ácidos graxos insaturados das membranas celulares tornam-se alvo de dano oxidativo pelas suas ligações insaturadas, porque estas são fracas e se rompem facilmente. Sendo assim, os lipídios insaturados da mitocôndria, membrana plasmática e organelas são os principais locais de deteriorização oxidativa, processo que é chamado de peroxidação lipídica ou lipoperoxidação (Halliwell; Gutteridge, 1999).

Os danos oxidativos nas células e tecidos estão associados com a etiologia de doenças degenerativas, enquanto que os danos no DNA estão relacionados aos processos de mutagênese e carcinogênese (Anderson, 1996).

A ocorrência de estresse oxidativo leve a moderado é frequentemente acompanhada do aumento das defesas antioxidantes enzimáticas, sendo que a produção de uma elevada quantidade de radicais livres pode causar danos e morte celular (Anderson, 1996).

O sistema de defesa antioxidante está dividido em enzimático e não enzimático. O primeiro inclui as enzimas superóxido dismutase, catalase e glutationa peroxidase. O sistema não enzimático inclui os compostos sintetizados pelo organismo humano (ex: bilirrubina, ceruloplasmina, hormônios sexuais, melatonina, coenzima-Q, ácido úrico) e micronutrientes da dieta (ácido ascórbico, alfa-tocoferol, beta-caroteno e flavonoides) (Yu, 1994).

Segundo Ghanim *et al* (2007) ocorreu maior geração de EROs duas horas após a incubação de células com glicose, quando comparada com a mesma dose de frutose, foi observada em estudo *in vitro*. No entanto, verificou-se em outro estudo *in vitro* que a frutose

gera cem vezes mais EROs comparada à glicose porque o grupo amina da lisina é espontaneamente hidrogenado por meio da reação de *Maillard* (Lim *et al*., 2010).

A reação de *Maillard*, em produtos alimentícios, ocorre por glicação de proteínas. Neste processo não enzimático, a glicose e o grupamento amina de lisina reagem e formam frutoselisina. A frutoselisina sofre desidratação, rearranjo e ciclização, seguida de reação que forma os produtos da glicação avançada (*advanced glycation end products* – AGEs) (Vasconcelos *et al*., 2007). O tipo de glicídio interfere na velocidade de reação com os grupamentos amina, tendo sido demonstrado que o glicídio presente nos resíduos da lisina, constitui o alvo principal para reação (Shibao e Bastos, 2011).

Durante a reação de *Maillard* também são formados compostos voláteis (ex: cetonas e aldeídos) envolvidos na formação de EROs (Shibao e Bastos, 2011). A reação de *Maillard* também ocorre *in vivo*, sendo denominada de glicação, ocorrendo pela via do estresse carbonílico, na qual a oxidação de lipídeos ou de açúcares gera compostos dicarbonílicos intermediários, altamente reativos. Esta glicação não-enzimática de proteínas é um processo relacionado à hiperglicemia crônica e pode ser avaliada pelo exame de hemoglobina glicada (HbA1c) (Shibao e Bastos, 2011). A HbA1c origina-se por meio de uma reação irreversível entre a glicose sanguínea e o aminoácido valina N-terminal da cadeia beta da hemoglobina A (SBD, 2015).

Indivíduos com DM1 devem manter a glicemia pós-prandial inferior a 180mg/dL (SBD, 2015), porque a hiperglicemia pode resultar em glicação de proteínas extracelulares e geração de radicais livres (Ceriello *et al*., 2009; 2010).

Os mecanismos que explicam a geração de radicais livres pela hiperglicemia baseiam-se no estímulo à via dos polióis, ativação da proteína quinase-C por diacilglicerois e ativação da via das hexosaminas (Ceriello *et al*., 2014).

A via das hexosaminas ocorre durante o aumento da glicose intracelular com consequente metabolização final de frutose-6-fosfato à uridina difosfato-N-acetil glucosamina, sendo que esta última estimula a produção de citocinas inflamatórias e fatores de transcrição (Du *et al*., 2000). A ativação da enzima proteína quinase-C junto ao diacilglicerol, aumenta a permeabilidade vascular, proliferação celular, angiogênese, ação de citocinas e adesão leucocitária (Studer *et al*., 1993). De outro modo, a via dos polióis estimula a conversão de glicose à sorbitol, sendo este sorbitol convertido à frutose, o que aumenta a relação NADH/dinucleotido de nicotinamida e adenina ($NADH/NAD^+$) e reduz a glutationa (antioxidante intracelular) (Gabbay *et al*., 1966)

Comparados a indivíduos saudáveis, pacientes com DM1 apresentam maiores concentrações de AGEs (Ceriello *et al*., 2014; Wu *et al*., 2013). Os AGEs são substâncias formadas a partir de interações entre açúcares redutores ou lipídios oxidados e proteínas, modificando as propriedades de estruturas biológicas por meio da geração de radicais livres (Singh *et al*., 2001).

A aterosclerose está associada ao estresse oxidativo e inflamação na parede arterial (Ross, 1993). Dentre os métodos para avaliação do estresse oxidativo, o malondialdeído plasmático e o F2-isoprostane urinário são os que apresentam valor prognóstico significativo para doenças cardiovasculares (Del Rio *et al*., 2005; Mateos *et al*., 2005; Lee *et al*., 2012). Portanto, justifica-se a busca por alimentos/nutrientes que resultem em menor estresse oxidativo, particularmente para indivíduos com DM, porque estes apresentam maiores complicações consequentes desse processo devido à maior velocidade de glicação durante as hiperglicemias (Monnier *et al*., 2008).

4. JUSTIFICATIVA

Permanecem controversos os efeitos da glicose e da frutose no metabolismo de pacientes com DM1, sendo úteis os estudos que possam contribuir para o entendimento das consequências metabólicas do uso excessivo destes carboidratos simples por estes pacientes.

O presente estudo também pode contribuir na elucidação de questões importantes referentes à dietoterapia no DM1, principalmente quanto à ingestão de açúcares. Estes conhecimentos podem aumentar o conhecimento acerca dos efeitos metabólicos dos monossacarídeos nas variáveis metabólicas relacionadas com o controle do DM1 e suas complicações.

Também, o efeito da elevada ingestão de frutose, adicionada aos alimentos como edulcorante, tem sido relacionada com elevação dos triglicerídeos. Na maioria dos estudos, este efeito foi demonstrado comparando-se a frutose com dissacarídeos, mas não com outro monossacarídeo, como por exemplo, a glicose.

Considera-se importante e inovadora a proposta de se avaliar a influência pós-prandial dos principais monossacarídeos dietéticos (glicose e frutose) na glicemia, concentrações de glucagon, triglicerídeos, ácido úrico e malondialdeído, além da palatabilidade das destes carboidratos simples por indivíduos com DM1.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência da ingestão de frutose e glicose nas concentrações de glicemia, glucagon, triglicerídeos, uricemia e malondialdeído pós-prandiais de indivíduos com diabetes mellitus tipo 1.

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a ingestão dietética habitual, nível de atividade física, variáveis antropométricas e composição corporal dos pacientes com diabetes mellitus do tipo 1, que participaram do presente estudo;
- Avaliar a função renal, enzimas hepáticas, perfil lipídico, HbA1c, frutosamina e glicemia da amostra de pacientes com diabetes mellitus do tipo 1, antes da intervenção;
- Comparar as concentrações de glicose, glucagon, triglicerídeos, ácido úrico, lactato e malondialdeído dos pacientes com diabetes mellitus do tipo 1, após a administração oral de soluções contendo frutose e glicose;
- Avaliar a percepção de palatabilidade, para soluções contendo frutose e soluções contendo glicose, dos pacientes com diabetes mellitus do tipo 1.

6. METODOS

6.1. Aspectos éticos

O presente estudo faz parte de um projeto maior intitulado "*Influência da ingestão de frutose e glicose e do receptor gustativo TAS1R2 na glicemia, trigliceridemia, metabolismo energético, oxidação dos substratos, uremia, estresse oxidativo, sensações relacionadas à ingestão alimentar e palatabilidade de indivíduos com diabetes tipo 1*" que foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HUCFF sob o nº 151/11 (ANEXO A) e registrado no ClinicalTrial.gov (NCT01713023) (ANEXO B) sob o nome de "*Effect of fructose and glucose and TAS1R2 in glucose, triglycerides, uremia, oxidative stress, feelings related to food intake of individuals with type 1 diabetes*".

Os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO D) depois de esclarecidos quanto à inexistência de remuneração e aos riscos e benefícios do estudo (em nível individual e coletivo).

6.2. Delineamento do estudo

O estudo é um ensaio clínico simples cego, randomizado com delineamento 2x2, *crossover* (Gomes *et al*., 2012).

Foram selecionados voluntários de forma contínua, tendo sido iniciado o recrutamento em outubro de 2013 e concluído em dezembro de 2014.

No estudo *crossover* os participantes receberam ambos os tratamentos em sequência. Esse tipo de estudo tem a vantagem de ter o mesmo indivíduo como controle dele mesmo, ou seja, emprega-se uma análise pareada sem a necessidade de grupos independentes. Também, aumenta o poder estatístico, possibilitando avaliações com um número menor de participantes (Souza, 2009).

O tipo de mascaramento utilizado, simples-cego, proporcionou que os pacientes desconhecessem qual a solução que estavam recebendo naquele momento, reduzindo a possibilidade de viés de performance (Carvalho *et al*., 2013).

6.3. Local e captação dos voluntários

O estudo foi realizado no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), localizado no município do Rio de Janeiro. Trata-se de um hospital universitário público que realiza assistência à saúde de alta complexidade e é integrado ao Sistema Único de Saúde.

O recrutamento dos voluntários foi realizado por meio de cartazes fixados no HUCFF e durante as consultas de pacientes atendidos no ambulatório de diabetes do Serviço de Nutrologia do HUCFF.

6.4. Critérios de elegibilidade

A população estudada foi constituída por adultos, de ambos os sexos, com tempo de diagnóstico do DM1 igual ou superior a três anos (Palmer *et al*., 2004; Sosenko *et al*., 2010; Sacks *et al*., 2011b) e utilizando esquema de insulina basal/bolus por meio de SICI ou análogos de longa duração (glargina, detemir ou degludec) juntamente à análogos de insulina de ação ultrarrápida (lispro, aspart ou glulisina).

Não foram incluídos no estudo indivíduos tabagistas, etilistas, em uso de hormônios (com exceção da insulina), antibióticos, antiinflamatórios, com nefropatia (*clearence* de creatinina < 90 mL/min/1,73m^2) (Levey *et al*., 2003; Rigalleau *et al*., 2005), danos hepáticos (aspartato aminotransferase [AST] e alanina aminotransferase [ALT] dentro dos limites de normalidade) (Dufour *et al*., 2000), sintomas de gastroparesia (Shin e Camilleri, 2013), história familiar de DM do tipo *maturity-onset of diabetes of the young* ou diabetes autoimune

latente do adulto (SBD, 2015) ou distúrbios visuais que impedissem o preenchimento da escala de palatabilidade (Crapo *et al*, 1982).

Também foram excluídos os voluntários que não finalizaram todas as etapas do estudo ou que apresentaram alguma intercorrência listada anteriormente durante o estudo (Figura 1).

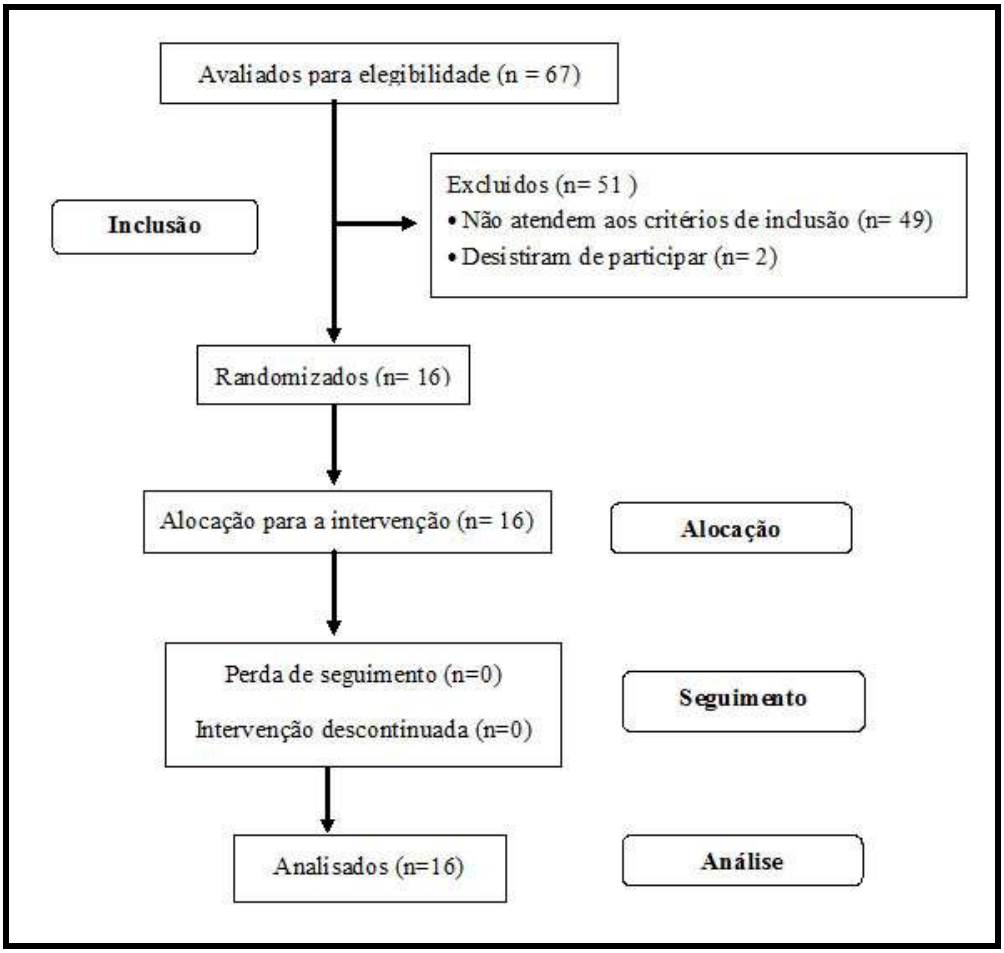


Figura 1 – Fluxograma de recrutamento

A amostra foi selecionada por conveniência e os resultados foram descritos sem a pretensão de se fazer inferências para outras populações (Lwanga e Lemeshow, 1991).

6.5. Fluxograma do estudo

Por meio de ligação telefônica, no dia anterior ao experimento, foram questionadas possíveis intercorrências que poderiam influenciar no resultado das análises laboratoriais (ANEXO E), sendo remarcado o experimento no caso do paciente relatar algum dos mesmos.

Os voluntários selecionados foram instruídos quanto ao preenchimento do registro dietético habitual e a não realizarem atividades físicas vigorosas, não ingerirem alimentos hiperlipídicos, bebidas alcoólicas e excesso de cafeína no dia anterior a cada experimento.

Ademais, os voluntários foram orientados a realizarem jejum noturno de oito horas e a manterem suas doses regulares de insulina basal, não aplicarem insulina rápida ou análogos de ação ultrarrápida no dia de cada experimento.

Os voluntários foram randomizados quanto a ordem de oferecimento das soluções contendo frutose ou glicose, em delineamento 2 x 2 *crossover*, com período de *washout* de uma semana ou mais, dependendo da disponibilidade dos mesmos ou da presença de intercorrências (Figura 2).

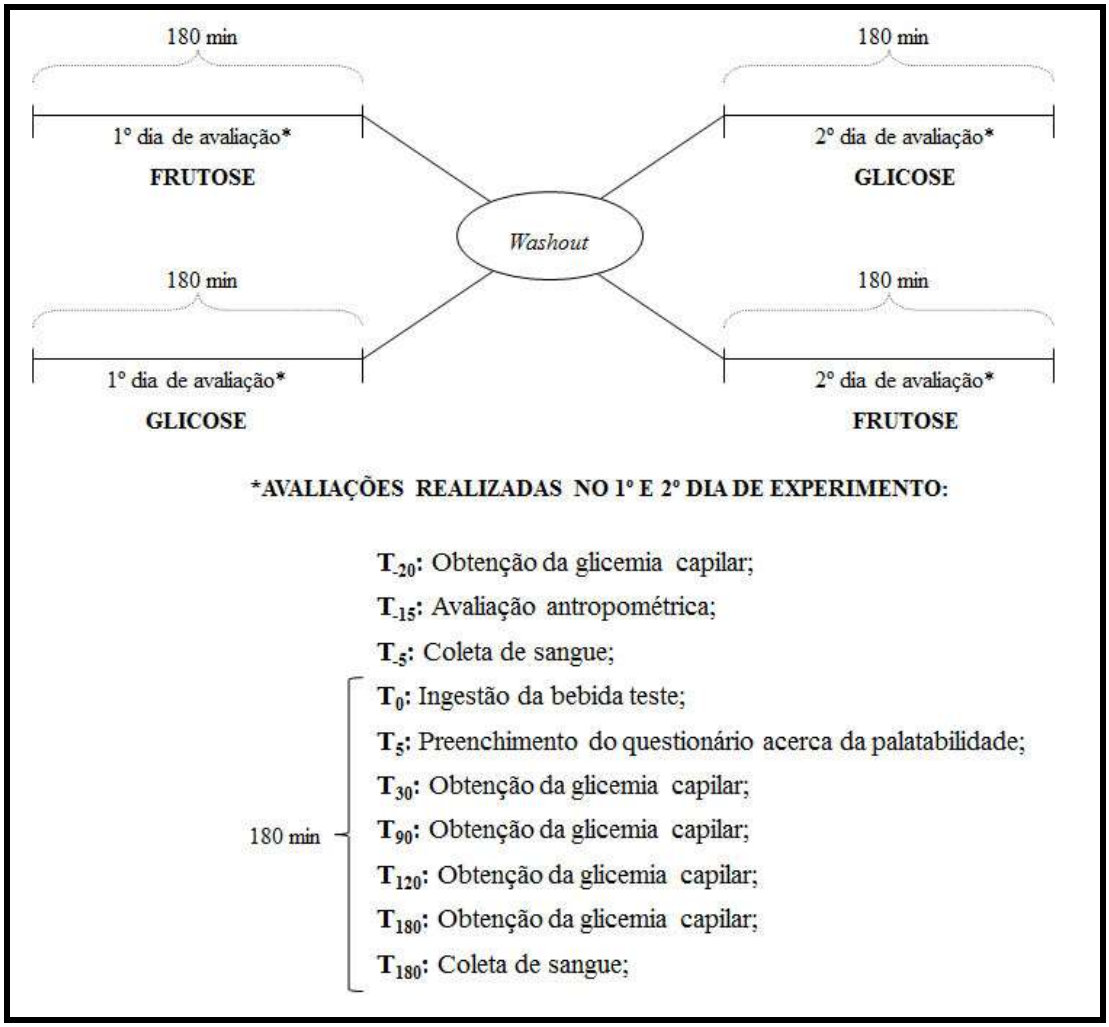


Figura 2 – Fluxograma de realização do estudo

Cada dia de experimento ocorreu após jejum de oito horas, quando os voluntários se apresentaram ao HUCFF para avaliação da glicemia capilar (T_{-20}), antropométrica (T_{-15}) e coleta de sangue (T_{-5}). Na sequência, os voluntários receberam a solução teste (T_0) e responderam a escala sobre palatabilidade da solução imediatamente após a ingestão da bebida. A glicemia capilar foi avaliada após 30, 90, 120 e 180 minutos (T_{30}, T_{90}, T_{120} e T_{180}) da ingestão da solução. Após 180 minutos (T_{180}), ocorreu a segunda coleta de sangue para avaliação laboratorial (Figura 3).

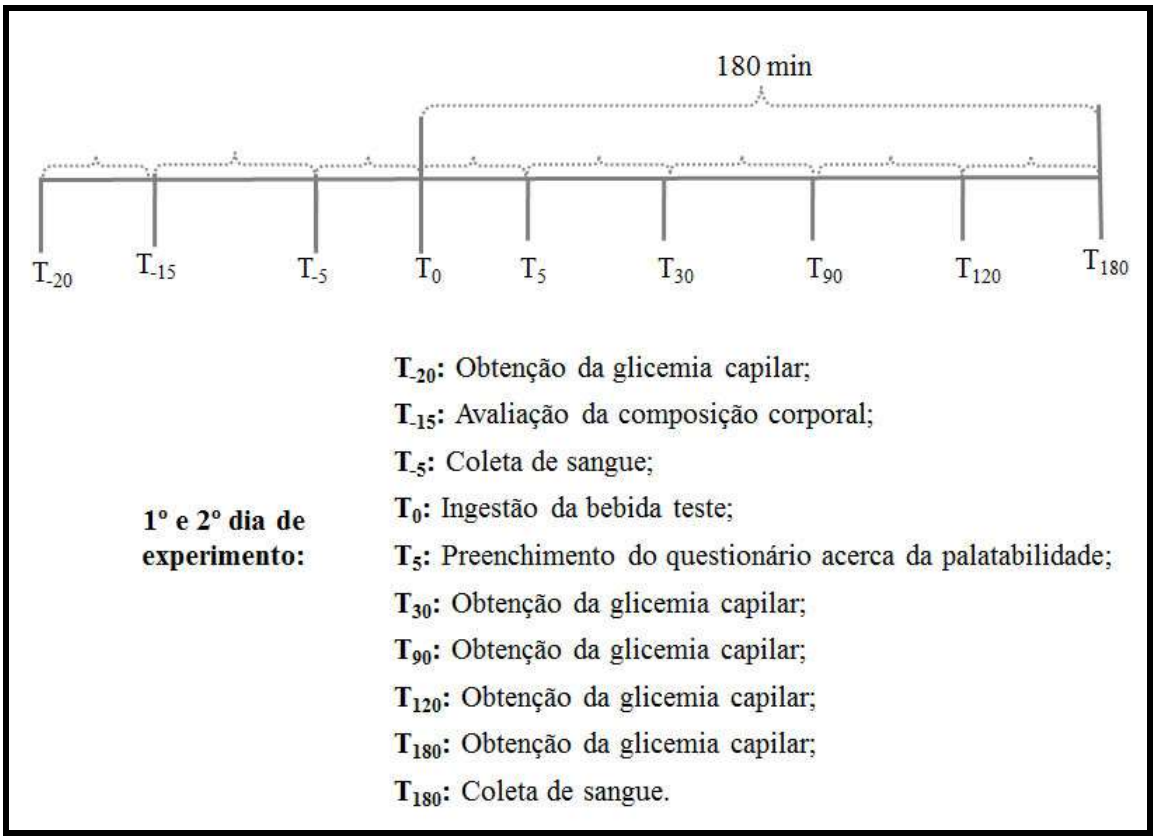


Figura 3 – Fluxograma de cada experimento

Ao final de cada dia de experimento, os voluntários receberam um lanche (composto por dois pacotinhos de biscoito Club Social® original, dois polenguinhos® light, uma caixinha de Ades® zero sabor uva e uma barrinha de cereais Trio® diet) *ad libidum.*

Os voluntários receberam a aplicação de análogo de insulina de ação ultrarrápida, considerando a glicemia capilar no momento T_{180}, a sensibilidade à insulina e a quantidade de carboidratos do lanche oferecido.

6.6. Composição das soluções teste

As soluções teste foram constituídas de 75 g de frutose (pó branco cristalino – Lowçucar®) (ANEXO F) ou 75g de glicose (dextrose em pó – GLUTOL da Laborclin®) (ANEXO G), ambas dissolvidas em 200mL de água mineral potável em temperatura ambiente e (21-25ºC).

Considerando que, até o momento, não há estudos que indiquem a capacidade de absorção intestinal de frutose em indivíduos com DM1, enquanto que as dissacaridases intestinais de indivíduos saudáveis metabolizam de 30 a 50g deste monossacarídeo/refeição (Riby *et al*., 1993), a quantidade de glicose e frutose oferecidas foram estabelecidas com base no teste de tolerância oral à glicose, sendo pertinente que os dois diferentes tipos de monossacarídeos testados fossem oferecidos de forma idêntica para que não houvesse influência da quantidade, volume e consistência na capacidade de ingestão dos memos.

6.7. Avaliação dietética

Os voluntários foram orientados a preencherem registro dietético de três dias, não consecutivos, incluindo dois dias úteis e um dia de final de semana, para caracterizar suas respectivas ingestões habituais (ANEXO H) (Fontanive *et al*., 2002).

As medidas caseiras descritas nos registros foram convertidas em gramas com o auxílio da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (UNICAMP, 2011) e analisados no software de avaliação nutricional Diet Pró 5i, versão 2008. Neste software utilizamos alimentos da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (UNICAMP, 2011), Tabela de composição de alimentos de Philippi (2013), Tabela Brasileira de Composição de Alimentos da Universidade de São Paulo (Giuntini *et al*., 2006) e a Tabela do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (Bodner-Montville *et al*., 2006).

6.8. Avaliação da prática de atividade física

A prática de atividade física foi avaliada por meio da versão curta do questionário internacional de atividade física (ANEXO I) (Garcia *et al*., 2013), objetivando a caracterização dos pacientes.

Esta avaliação foi realizada considerando o efeito atribuído à variabilidade individual que a prática regular de exercícios físicos proporciona (maior translocação do GLUT-4 para a membrana plasmática e fibras musculares mais sensíveis à ação da insulina), havendo recomendação para que os indivíduos com DM1 reduzam as doses de insulina quando praticam o exercício (SBD, 2015).

6.9. Avaliação antropométrica

As variáveis antropométricas foram utilizadas para caracterização da população.

O peso e a estatura foram medidos no ambulatório de nutrologia do HUCFF, por estadiômetro e balança mecânica, com escala de 1 cm e 100g, respectivamente, de acordo com o preconizado pelo Ministério da Saúde e utilizados para o cálculo e classificação do IMC. Conforme preconizado, pacientes com IMC entre 18,5 e 24,9kg/m^2 foram classificados como eutróficos, sendo magreza definida pelo IMC inferior a 18,5kg/m^2 , sobrepeso por IMC entre 25 e 29,9kg/m^2, obesidade grau I para IMC entre 30 e 34,9kg/m^2, obesidade grau II para IMC entre 35 e 39,9kg/m^2 ou obesidade grau III para IMC igual ou superior a 40kg/m^2 (WHO, 1995).

Para a avaliação do perímetro da cintura, foi utilizada fita métrica inextensiva e inelástica, posicionada no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, permanecendo o paciente com os braços e abdome relaxados após expiração normal, como preconizado pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2008). Os valores abaixo de 80 cm para as mulheres e 90 cm para homens foram utilizados para classificação, conforme definição pelo *International Diabetes Federation* (Alberti *et al*., 2006).

A composição corporal foi avaliada por bioimpedância elétrica (Biodynamics® modelo 450), a qual se baseia no princípio da resistência corporal à passagem da corrente elétrica no tecido hidratado, sendo possível a estimação dos valores de água corporal total, massa magra

e massa gorda, considerando o modelo de dois compartimentos corporais (Lukaski *et al*., 1985). A classificação do estado nutricional, segundo o percentual de gordura corporal, foi realizada considerando como normalidade o percentual de gordura de 14 a 25% e de 23 a 32% para homens e mulheres adultos, respectivamente (Lohman *et al*., 1991).

6.10. Avaliação laboratorial

Considerando que o jejum de oito horas é adequado para avaliação laboratorial de pacientes com DM (Resnick *et al*, 2006; Sacks *et al.*, 2011). Os pacientes foram orientados a realizarem jejum noturno de oito horas e a apresentarem-se no ambulatório do HUCFF, onde as amostras de sangue foram coletadas por profissional treinado e habilitado.

Com exceção das concentrações de HbA1c, frutosamina, creatinina, AST, ALT, colesterol total e frações, que foram avaliadas apenas no período basal para caracterização da população estudada, as demais avaliações ocorreram após jejum noturno de oito horas e 180 minutos após a ingestão das soluções contendo glicose ou frutose.

Os exames de glicemia, lipemia, creatinina, AST, ALT e ácido úrico foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia (LACFAR) da UFRJ, por meio de parceria previamente estabelecida. As análises foram realizadas com os reagentes e equipamento Labmax Plenno® da empresa LabTest Diagnóstica®.

A HbA1c foi avaliada com o kit e equipamento Variant II da Bio-Rad Laboratories® no Laboratório Sérgio Franco®. No mesmo laboratório, os resultados da frutosamina e do lactato foram obtidos por meio do equipamento Cobas Integra 800 CTS analyzer® e reagentes da empresa Roche Diagnostics®.

As concentrações de triglicerídeos foram dosadas por método enzimático colorimétrico (kit Triglicérides Liquiform da Labtest Diagnóstica®), com limite de detecção (*limit of detection* – LOD) de 0,1-61,1 mmol/L. As concentrações inferiores a 3,8 mmol/L (<150 mg/dL) são consideradas como desejáveis (SBD, 2015).

Colesterol total e HDL também foram avaliados por método enzimático colorimétrico, por meio dos kits Colesterol Liquiform (LOD de 0,0-27,7 mmol/L) e Colesterol HDL (LOD de 0,0-11,1 mmol/L) da Labtest Diagnóstica®. LDL foi calculado com base na equação de Friedewald (Friedewald *et al*., 1972). Para pacientes com DM, adultos, os

valores de normalidade correspondem a colesterol total inferior a 11,1 mmol/L (<200 mg/dL), LDL inferior a 55,5 mmol/L (<100 mg/dL), HDL superior a 2,5 mmol/L (>45 mg/dL) para homens e 2,7 mmol/L (>50mg/dL) para mulheres (SBD, 2015).

As enzimas hepáticas foram avaliadas por ensaios cinéticos ultravioletas, pela dosagem de AST (kit ALT/GLP Liquiform da Labtest Diagnóstica®) e ALT (kit AST/GOT Liquiform da Labtest Diagnóstica®) O Ambos os kits apresentam LOD de 3,5-400 U/L. Os valores considerados normais são de 11-39 U/L e 11-45 U/L, respectivamente (Scheig, 1996; Prati *et al*., 2002).

A creatinina sérica foi dosada pelo método cinético colorimétrico (kit Creatinina Liquiform da Labtest Diagnóstica®. LOD de 17,6-1.060,8 µmol/L ou 0,2-12 mg/dL), para o cálculo do clearence de creatinina utilizando-se a fórmula de Cockcroft-Gault [(140 – idade) x peso x 0,85 se mulher ÷ (72 x creatinina plasmática)], para verificação da função renal (Cockcroft e Gault, 1976). Pacientes com clearence de creatinina inferior a 1,50 mL/s (90 mL/min/1,73m^2) foram excluídos do estudo (Levey *et al*., 1999; Rigalleau *et al*., 2005; Bulum *et al*., 2012).

A glicemia sérica foi avaliada por método enzimático colorimétrico, por meio do kit Glicose Liquiform da LabTest Diagnóstica® e LOD de 2.4-33.6 mmol/L.

A frutosamina também foi avaliada pelo método enzimático colorimétrico com o Kit da Roche Diagnostic Systems® e LOD de 14-1000 mcmol/L. Para indivíduos saudáveis, os valores de referência para frutosamina são de 205-285 mcmol/L (Sacks *et al*., 2011b).

A HbA1c foi dosada por cromatografia líquida de alta performance com o Kit BioRad Variant II da Bio-Rad Laboratories®. Considera-se normal o valor de HbA1c inferior a 5,7%, porém, a meta para adultos com DM é de HbA1c inferior a 7% (SBD, 2015).

O ácido úrico foi determinado por método cinético enzimático (kit Ácido úrico Liquiform da Labtest Diagnóstica®. LOD de 17,6-1.060,8 µmol/L). Os valores de referência

para o ácido úrico diferem entre gêneros, sendo de 221-618,8 µmol/L (2,5-7,0 mg/dL) para homens e de 132,6-530,4 µmol/L (1,5-6,0 mg/dL) para mulheres.

O lactato também foi dosado por método cinético enzimático (Kit da Roche Diagnostic Systems®. LOD de 0,2-15,5 µmol/L), sendo preconizados os valores de normalidade de 397,8-1.750,3 µmol/L (4,5-19,8 mg/dL).

Alíquotas de plasma foram armazenadas a -80ºC até serem encaminhadas ao Instituto Gênese de Análises Clínicas® onde foram avaliados o glucagon e o malodialdeído, ambos por *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA).

O malondialdeído foi dosado com o kit comercial da Life Science Inc® com LOD de 0,9-74,2 µmol/L e limite de quantificação (*limit of quantitation* – LQD) de 0,3 µmol/L. Não há consenso sobre os valores de referência para malondialdeído (Horn, 2011).

O glucagon foi avaliado com o kit comercial da Life Science Inc® com LOD de 18,5-1.500 ng/L e LQD de 6,3 ng/L. A faixa de normalidade recomendada para glucagon é de 40-130 ng/L.

6.11. Avaliação da palatabilidade das soluções

As soluções foram preparadas no momento do oferecimento das mesmas.

Os voluntários receberam instruções para ingerirem integralmente a solução em três minutos no máximo, respondendo a escala de palatabilidade logo em seguida.

Utilizou-se escala validada para avaliação dos aspectos da palatabilidade das soluções, tais como o grau de doçura, sabor e solubilidade (ANEXO J). A escala é composta por linhas de 100mm com palavras em cada extremidade, descrevendo os extremos (Crapo *et al*., 1982).

Os voluntários foram orientados a realizarem uma marcação no local correspondente à sua sensação relacionada com cada variável do questionário. A quantificação foi realizada por meio da medição da distância entre a extremidade esquerda da linha até a marca vertical.

6.12. Controle do diabetes mellitus

Os voluntários foram orientados a manterem suas doses regulares de insulina basal sendo recrutados apenas voluntários utilizando análogos de insulina de longa duração (glargina, detemir ou degludec) ou SICI a fim de evitar cetacidose durante o experimento (Greenbaum *et al*., 2008; Bloomgarden, 2009).

Os voluntários foram orientados a não aplicar insulina de ação rápida ou análogos de ação ultrarrápida na manhã de cada experimento a fim de evitar oscilações glicêmicas decorrentes da insulina exógena.

A glicemia capilar foi avaliada na chegada do voluntário (T_{-20}) e após 30, 90, 120 e 180 minutos (T_{30}, T_{90}, T_{120} e T_{180}) da ingestão da solução, por meio do glicosímetro OneTouch® UltraMini® (Johnson & Johnson®), sendo os valores de glicemias posteriormente transmitidos por meio do software OneTouch Zoom+ Pro® (exibidos por *SnapShot*).

6.13. Análise estatística

As variáveis quantitativas foram analisadas como média, desvio padrão (M ± DP) e intervalo de confiança (IC). Variáveis qualitativas foram descritas como frequência (%).

O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparação entre grupos antes e após intervenção e Wilcoxon para análise do efeito da intervenção em cada grupo.

O coeficiente de correlação de Spearman e a análise de regressão linear foram utilizados para descrever a relação entre as variáveis clínicas, laboratoriais e antropométricas.

A análise de variância (ANOVA de repetidas medidas) foi utilizada para comparar as glicemias capilares entre grupos e a interação grupo *versus* tempo.

Todos os resultados foram obtidos por meio do programa de análise estatística SPSS versão 17, considerando $p<0,05$.

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O manuscrito intitulado "*Postprandial metabolic effects of fructose and glucose in patients with type 1 diabetes: A randomized crossover clinical trial*" será submetido ao periódico Nutrition® (ISSN: 0899-9007), cadastrado na base de dados da ELSEVIER®.

Nas páginas 56 a 81, apresentamos o manuscrito nas normas solicitadas pelo periódico anteriormente mencionado. As tabelas suplementares (*supplementary data*) encontram-se nas páginas 82 a 86.

O "CONSORT 2010 checklist" e o "CONSORT 2010 Flow Diagram" (Schulz *et al*., 2010), referentes ao manuscrito, podem ser observados nos anexos K e L, respectivamente.

TITLE PAGE

TITLE: Postprandial metabolic effects of fructose and glucose in patients with type 1 diabetes: A randomized crossover clinical trial

Running title: fructose and glucose for type 1 diabetes

AUTHORS: Débora Lopes SOUTO[1‡*], Érika dos Santos LIMA[2‡], Joana Rodrigues DANTAS[3♦], Lenita ZAJDENVERG[4♦], Melanie RODACKI[5♦], Eliane Lopes ROSADO[6‡].

AUTHOR DETAILS (academic degree and institutional affiliation):

[1] Ph. D. student in Nutrition Sciences and Master in Human Nutrition at the Federal University of Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: deboralopessouto@gmail.com

[2] MD, Master in Human Nutrition at the Federal University of Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: erikalima.nutri@gmail.com

[3] MD, Master in Nutrology at the Federal University of Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: joanardantasp@ig.com.br

[4] MD, Ph. D. in Medicine at the Federal University of Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: lenitazaj@gmail.com

[5] MD, Ph. D. in Medicine at the Federal University of Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: melanierodacki@gmail.com

[6] Ph. D. in Food Science and Technology at the Federal University of Viçosa, Brazil. E-mail: elianerosado@nutricao.ufrj.br

[‡]Federal University of Rio de Janeiro, Institute of Nutrition Josué de Castro, Department of Nutrition and Dietetics (Brazil).

[♦]Federal University of Rio de Janeiro, Department of Internal Medicine, Section of Diabetes and Nutrology (Brazil).

*CORRESPONDENCE TO: Débora Lopes SOUTO

360 Felisbelo Freire Street, Apartament 202 – District: Ramos – Rio de Janeiro, RJ – Brazil. Zipe Code: 21031-250. E-mail: deboralopessouto@gmail.com

AUTHORS' CONTRIBUTIONS: DLS and ESL conceived, performed and coordinated the study. LZ, MR, and JRD helped in collecting data and contributed to draft the manuscript. ELR participated in design and coordination. All authors read and approved the final manuscript.

Word count: 249 words in abstract; 3,262 words in main text; 35 references; 4 tables; and 5 additional tables, which included as supplementary data.

Total: 4.996 words including abstract, main text, references and tables.

Declarative statement: We wish to confirm that there are no conflicts of interest associated with this publication, and the manuscript has been read and approved by all authors. The study was funded by Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio de Janeiro. We confirm that there are no impediments to publication, and we understand that the corresponding author is the sole contact for the editorial process.

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

TITLE PAGE

TITLE: Postprandial metabolic effects of fructose and glucose in patients with type 1 diabetes: A randomized crossover clinical trial

AUTHORS: Débora Lopes SOUTO[1‡*], Érika dos Santos LIMA[2‡], Joana Rodrigues DANTAS[3♦], Lenita ZAJDENVERG[4♦], Melanie RODACKI[5♦], Eliane Lopes ROSADO[6‡].

INSTITUTIONAL AFFILIATION:

[1] Ph. D. in Nutrition Sciences at the Federal University of Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: deboralopessouto@gmail.com

[2] MD, Master in Human Nutrition at the Federal University of Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: erikalima.nutri@gmail.com

[3] MD, Master in Nutrology at the Federal University of Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: joanardantasp@ig.com.br

[4] MD, Ph. D. in Medicine at the Federal University of Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: lenitazaj@gmail.com

[5] MD, Ph. D. in Medicine at the Federal University of Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: melanierodacki@gmail.com

[6] Ph. D. in Food Science and Technology at the Federal University of Viçosa, Brazil. E-mail: elianerosado@nutricao.ufrj.br

‡ Federal University of Rio de Janeiro, Institute of Nutrition Josué de Castro, Department of Nutrition and Dietetics (Brazil).

♦ Federal University of Rio de Janeiro, Department of Internal Medicine, Section of Diabetes and Nutrology (Brazil).

[*]**CORRESPONDENCE TO:** Débora Lopes SOUTO

360 Felisbelo Freire Street, Apartament 202 – District: Ramos – Rio de Janeiro, RJ – Brazil.

Zipe Code: 21031-250. E-mail: deboralopessouto@gmail.com

ABBREVIATIONS PAGE

List of Abbreviations:

ALT, alanine aminotransferase;

AMP, adenosine monophosphate;

AST, aspartate aminotransferase;

ATP, adenosine triphosphate;

BMI, body mass index;

CBG, capillary blood glucose;

HbA1c, glycosylated haemoglobin;

OGTT, oral glucose tolerance test;

OFTT, oral glucose tolerance test;

SD, standard deviations;

TEI, total energy intake.

ABSTRACT PAGE

BACKGROUND & AIMS: To test the influence of oral fructose tolerance test (OGTT) and oral glucose tolerance test (OGTT) in the blood glucose, glucagon, triglycerides, uricaemia, and malondialdehyde in the postprandial state levels in patients with type 1 diabetes. **METHODS:** The study was a simple-blind, randomized, two-way crossover design in which sixteen patients with type 1 diabetes were randomly selected to receive OFTT and OGTT (75g of fructose or glucose dissolved in 200mL of mineral-water, respectively) in two separate study days, with 2-7 week washout period. In each study day, venous blood samples were drawn after 8h fasting and at 180min postprandial to obtain results of the glucose, glucagon, triglycerides, uric acid, lactate, and malondialdehyde levels. Statistical analyzes were performed in SPSS software with significance level of 5%. **RESULTS:** Although the OGTT present lower dilution than OFTT ($p<0.01$), both sugars had similar sweetness, flavor and aftertaste characteristics. OFTT resulted in lower postprandial blood glucose levels than OGTT (4.4±5.5 mmol/L; and 12.9±4.1 mmol/L, respectively; $p<0.01$). Uric acid levels increased after OFTT (0.4±0.8 µmol/L; $p<0.01$) and reduced after OGTT (-0.2±0.1 µmol/L; $p<0.01$). The malondialdehyde levels increase after OFTT (1.4±1.6 µmol/L; $p<0.01$) and did not change after OGTT (-0.2±1.6 µmol/L; $p=0.40$). Other variables did not change. **CONCLUSIONS:** The OFTT resulted in lower blood glucose levels than OGTT in patients with type 1 diabetes, but increased uric acid and malondialdehyde levels. OFTT and OGTT had similar sweetness, flavor and aftertaste characteristics and did not changes triglycerides, lactate or glucagon levels. ClinicalTrials.gov registration: NCT01713023.

KEY-WORDS: type 1 diabetes; fructose; glucose; malondialdehyde; uricaemia.

MANUSCRIPT TEXT

INTRODUCTION

Sweetness is considered one of the most powerful determinants of food consumption (1). Among sugars, fructose has raised interest because it results in lower postprandial glucose concentrations than the ingestion of isocaloric amounts of other carbohydrates. Therefore, fructose used as a sweetening agent in the diet of patients with diabetes may have a definite advantage (2). Nevertheless, fructose has potentially harmful effects on other aspects of metabolism such as weight gain, cardiovascular diseases, and gout (3,4). Thus, the effects of fructose intake on diabetes complications have to be studied.

Previous studies that included patients with type 1 diabetes have examined the effect of this sugar given as part of a meal or as part of the sucrose molecule (2). The combination of the fructose and glucose produced a synergistic increase in glycogen accumulation in hepatocytes, while, when the fructose is given alone contribute to increase triglycerides, lactate, pyruvate, and oxidative stress levels (3,4).

In the absence of an international consensus on what is adequate or excessive fructose intake, we conducted a simple-blind, randomized, two-way crossover study to examine the postprandial influences of an oral fructose and glucose tolerance test in the blood glucose, triglycerides, uricaemia, and malondialdehyde levels in patients with type 1 diabetes.

PARTICIPANTS AND METHODS

Subjects

Patients with type 1 diabetes were recruited through poster advertisements or invited during routine medical appointment at the Clementino Fraga Filho University Hospital, Brazil (between October 2013 and December 2015) by an author.

All volunteers were diagnosed with type 1 diabetes according to the American Diabetes Association criteria (5), and used the subcutaneous infusion system insulin or multiple insulin injections with long-acting insulin analogues (glargine or detemir) combined with a short-acting analogs (aspart, lispro or glulisina).

Exclusion criteria were hypertension, renal or hepatic impairment, rheumatologic disease, evidence of diabetic complications, delayed gastric emptying or gastroparesis symptoms, use of antibiotics or anti-inflammatory drugs or antidiabetic medications, smoking, alcoholism, visual difficulty, and parental history of other types of diabetes. Patients with disease duration less than three years were also excluded.

The sample size and selection by convenience. All participants signed an informed consent, and the study was approved by the Ethical Committee (Institutional Review Board, protocol 151/11) and was registered at ClinicalTrial.gov (NCT 01713023).

Study design

The study was a simple-blind, randomized, two-way crossover design in which sixteen patients with type 1 diabetes were randomly selected to receive either oral glucose tolerance test (OGTT) or fructose (OFTT) in two separate oral sugar tolerance test solution, with 2-7 weeks washout period.

One day before each study day, the researcher contacted the patient to ask about events that could influence the results (e.g. infection, flu, fever, hypoglycemia) or if they

reported significant deviations from their usual life patterns. The test was rescheduled in those situations. They were also instructed to refrain from alcohol consumption and any unusual exercise and activity 24h before.

Each participant used the usual long-acting insulin analogues dosages or maintained basal insulin dosing by subcutaneous infusion system. However, we suspended the short-acting analogs or the bolus dosage by subcutaneous infusion system in the morning on each test day.

On each study day, the patient arrived at the Clementino Fraga Filho University Hospital at 7-8h A.M. after 8h overnight fast. Upon arrival, anthropometric variables, capillary blood glucose (CBG) and venous blood glucose samples were collected.

The order of the OGTT and OFTT was randomly assigned to the patient. They were instructed to drink it within three min and then complete questionnaires assessing the sweetness and palatability of the solution (6). CBG were collected at 30, 90, 120, and 180min after consumption of the solutions. The second venous blood sample was drawn 180min after the volunteer received the test solution.

At the end of each day, the volunteers received a dose of the short-acting analogs, considering the postprandial capillary blood glucose, insulin sensitivity and the amount of carbohydrate in the snack that was offered.

Oral fructose and glucose tolerance test solutions and assessment of sweetness and palatability

OFTT and OGTT were composed by 75g of white crystalline powder of fructose (Lowçucar, LightSweet, Brazil) or white crystalline powder dextrose (Glutol, Laborclin, Brazil) dissolved in 200 mL of mineral-water at ambient temperatures (21-25ºC or 73-77ºF).

To quantify the sweetness and palatability of OFTT and OGTT, we used the questionnaire described by Crapo *et al* (6).

Dietary intake and physical activity assessments

Before starting the intervention, patients filled in a 3-day (2 weekdays and 1 weekend day) food record. During those three days, all foods and drinks consumed had to be documented to allow quantitative estimation of dietary intake. Data were then entered into the DietPró 5.5i nutrition software (version 2010, Brazil) to convert the amount of food eaten into individual nutrients and the mean daily energy and nutrient intake for each patient was calculated. The 3-day energy and nutrient intakes were averaged to obtain a mean daily energy and nutrient intake for each patient.

The short-form of the international physical activity questionnaire was used to acess the regular physical activity (7).

Capillary blood glucose assessments

In each study day, CBG were measured by fingerpick with the use of a glucometer (Accu-Chek Active; Roche Diagnostics, Brazil). The same glucometer was used for the same patients for all two examination-day. The CBG samples were obtained at baseline and 30, 90, 120, 180min after consumption of each OGTT and OFTT.

Anthropometric measurements

Body mass index (BMI) was calculated as body weight in kilograms divided by the square of height in meters (8). Waist circumference was determined as the average of two measurements calculated to the nearest 0.1 cm midway between the lower rib margin and the iliac crest after a normal expiration (9).

Body composition was measured by tetrapolar bioelectrical impedance (Bioimpedance Analyzer 450, Biodynamics Corporation. Shoreline, WA, USA) (10).

Laboratory analysis

Screening blood tests performed at baseline included glycosylated haemoglobin (HbA1c), glucagon, fructosamine, creatinine, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and cholesterol profile.

Glucose, triglycerides, glucagon, uric acid, lactate, and malondialdehyde levels were measured at baseline and 180min after the intake of the OGTT and OFTT.

HbA1c was measured by the high-performance liquid chromatography (Variant II; Bio-Rad Laboratories®, USA). Fructosamine was measured by enzymatic colorimetric method (Roche Diagnostics®, UK).

Glucose, total cholesterol, HDL, and triglycerides were measured by an enzymatic colorimetric method (Labtest Diagnostic®, Brazil). LDL was calculated (11).

AST and ALT were determined using the ultraviolet kinetic method (Labtest Diagnostic®, Brazil).

Serum creatinine was measured by a direct colorimetric method (Labtest Diagnostic®, Brazil) to calculate creatinine clearance by using the Cockcroft–Gault formula (12).

Uric acid and lactate were measured by kinetic enzymatic method, with kits from Labtest Diagnostic® (Brazil) and Roche Diagnostics® (UK), respectively.

Glucagon and malondialdehyde levels were determined using the enzyme-linked immunosorbent assay (Life Science Inc®, USA). Malondialdehyde limit of detection ranged between 40-130 ng/L.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed in SPSS software (version 17.0; SPSS Inc, Chicago, IL, USA). A p-value <0.05 was considered statistically significant.

Qualitative variables were described as frequency, whereas quantitative variables were described as the mean ± standard deviations (SD) and 95% CI.

The Mann–Whitney test was used for between-group comparison and the Wilcoxon test was used to compare the effects of tests in each group. Spearman correlation and linear regression were used to evaluate laboratory analysis interaction with anthropometric variables.

Time course of CBG were analyzed with repeated measures analysis of variance two-way ANOVA.

RESULTS

Characteristics of the study group at baseline

Sixteen patients with type 1 diabetes (7 men) were evaluated, with a mean age of 25.2±8.8 years (range, 18–54), a mean duration of disease of 14.8±4.7 years (range, 7–27), and a mean BMI of 24.7±3.6 kg/m^2 (range, 17.6–30.3) (Table 1). All were in a basal-bolus plan, with 12 using multiple daily injections and 4 with a subcutaneous infusion system (details in the supplementary table 1).

The baseline characteristics of the study group were measured at the first study day. However, when the washout period exceeds fifteen days (7 patients), the baseline characteristics were revalued on the second study day. As results, baseline characteristics did not change during the washout period (details in the supplementary table 2).

Although the mean HbA1c values was slightly above target (<7%), the others routine tests were mostly within the treatment goals set by the American Diabetes Association (13) (table 1).

Patients presented an usual normoproteic, normoglycidic, hyperlipidic diet and an adequate fiber intake (13, 14) (details in the supplementary table 3). In addition, most patients were classified as active (details in the supplementary table 4).

Regular physical activity, and usual dietary intake did not change during the washout period.

Sweetness and palatability characteristics of solutions

Both solutions were well tolerated by all 16 patients with type 1 diabetes.

Solutions had similar sweetness, flavor and aftertaste characteristics. However, OGTT presented a lower dilution rate, while OFTT were readily diluted to homogeneous solutions ($p < 0.01$) (Table 2).

Effects of oral fructose and glucose tolerance test solutions in the capillary blood glucose

Table 3 shows the CBG concentrations over time after drinking the OGTT and OFTT.

Baseline CBG before intake the solutions were almost identical ($p=0.23$).

The maximum difference in CBG concentrations between the baseline and after the administration of the solutions were 13.4±4.6 mmol/L at 120min for OFTT, and 19.2±4.6 mmol/L at 180 minutes for OGTT. Two-factor repeated-measures ANOVA revealed a difference over time after the solutions ($F=567.90$; $p<0.01$).

Postprandial changes in laboratory tests

The influences of the test solutions in the laboratory tests are presented in Table 4.

At baseline, some patients presented hypoglycemic episodes (glucose <3.8mmol/L) on OFTT (n=3; 18.7%) and OGTT (n=1; 6.2%). Hyperglycemic episodes (≥9.99mmol/L) also occurred before the OFTT (n=5; 31.2%) and OGTT (n=1; 6.25%).

Both solutions increased the postprandial plasma glucose levels ($p<0.01$). However, OGTT resulted in greater postprandial glycaemia when compared to OFTT (4.4±5.5mmol/L and 12.9±4.1mmol/L, for OFTT and OGTT, respectively) ($p<0.01$).

Serum uric acid levels increased after OFTT (0.4±0.8 µmol/L; $p<0.01$), but reduced after OGTT (-0.2±0.1 µmol/L; $p<0.01$). The difference between postprandial and baseline values (delta) of uric acid also showed differences between solutions ($p<0.01$).

OFTT did not change glucagon (13.0±43.7 ng/L; $p=0.10$), or triglycerides levels (0.2±0.6 mmol/L; $p=0.32$). In contrast, after OGTT there was a reduction in glucagon levels (-11.0±34.0 pg/mL; $p=0.43$) and there was a trend for a decrease in triglycerides levels (-0.2±1.4 mmol/L; $p=0.05$). Lactate levels did not change after OFTT (0.1±0.5 mmol/L; $p=0.21$) or OGTT (-0.1±0.3mmol/L; $p=0.07$).

The baseline malondialdehyde values were higher before the OGTT than OFTT (11.1±1.9 µmol/L; and 10.0±2.0 µmol/L; $p<0.01$, respectively). We observed that the variation between postprandial and baseline values showed that the OGTT did not result in malondialdehyde elevation (-0.2±1.6 µmol/L; $p=0.40$). In addition, at baseline, the difference between tests showed that OFTT increased the malondialdehyde levels (1.4±1.6 µmol/L; $p<0.01$). Comparing the variations before and after OFTT and OGTT also showed differences between solutions ($p<0.01$), confirming the increase in malondialdehyde levels after OFTT.

The relative contributions of baseline characteristic differences between patients were assessed by linear regression and Spearman correlation. The time of diagnosis and HbA1c

levels were not associated with laboratory variables ($p>0.05$). BMI ($\rho=0.38$; $r=0.38$; $p=0.03$), body fat ($r=0.37$; $\rho=0.38$; $p=0.03$), and waist circumference ($r=0.43$; $\rho=0.38$, $p=0.02$) as independently associated with lactate levels (details in the supplementary table 5).

DISCUSSION

In this study we showed that OFTT resulted in lower blood glucose levels than OGTT in patients with type 1 diabetes, but increased uric acid and malondialdehyde levels. This was the first clinical trial that assessed the influences of monosaccharides in malondialdehyde levels in patients with type 1 diabetes, which is a potential biomarker for oxidative stress. Oxidative stress is considered a factor contributing to the determination of chronic diabetic complications, such as noenzymatic glycation of proteins, lipid peroxidation, cardiovascular diseases, hyperuricemia, and gout (15).

The smaller rise in plasma glucose levels with the OFTT than with the OGTT, shown in this analysis was expected and consistent with other studies (2, 16). There are only a few clinical trials that assessed the effect of glucose and fructose intake in metabolic control on patients with type 1 diabetes. These studies quantified the plasma glucose responses for different foods into a "glycemic index". The “glycemic index” was defined as the increase in plasma glucose area from zero to 120min after ingestion of 50g of available carbohydrate from a test food compared with 50g of carbohydrate from a reference food (white bread or glucose). For fructose, a particularly “low glycemic index” was described, with a smaller postprandial increase in plasma glucose than with other carbohydrates (17).

This response is similar in both type 1 and type 2 diabetic patients (18). Even though fructose and glucose have similar caloric content, they have different response on the carbohydrate metabolism. This should be partially explained by fructose clearance by the liver

in an insulin independent manner as well as the activation of different pathways than other carbohydrates (3).

There has been some concern over the possibility of fructose induced hypertriglyceridemia and this question is particularly relevant regarding patients with diabetes, in which hypertriglyceridemia is the most common lipid abnormality (2, 3). Fructose is metabolized in the liver by phosphorylation on the 1-position, a process that bypasses the rate-limiting phosphofructokinase step. Thus, hepatic metabolism of fructose favors lipogenesis, and may change circulating lipids (3).

High levels of fructose are converted to acetyl-CoA in the liver in a non-regulated manner, increasing the de novo lipogenesis, which facilitates the triglycerides production. Most of the studies evaluated its long term use (from 2-4 weeks) of fructose in overweight/obese patients with type 2 diabetes. These studies found a significant increase of the triglycerides levels, some with different responses according to gender, age and amount of fructose ingested (19, 20). On the other hand, in our study, the acute effect of one single large load of fructose did not raise triglycerides levels. Fructose might have had a lower effect on the lipid metabolism in our patients because they were young and the majority was eutrophic, without features of insulin resistance. In addition, the fact that it was an acute exposure to fructose instead of chronic intake could also have influenced the results.

We found no changes in glucagon levels after solutions, and no other studies evaluated glucagon levels in type 1 diabetic patients after a fructose overload.

The current study found a reduction in uric acid levels after OGTT and an elevation after OFTT. No other studies assessed the effect of oral glucose solutions in uricaemia of patients with type 1 diabetes. However, previous studies in healthy individuals (21) and in patients with type 2 diabetes (22) also demonstrated an increase in uric acid levels after fructose intake and a decrease after glucose intake. It is probable that the same mechanism

observed in healthy individuals may explain the effects of glucose in uric acid levels observed in our study. As no change in uric acid excretion was seen unless glycosuria was present, we hypothesize that hyperglycemia with glycosuria reflected an increase in the renal excretion of urates, leading to lower uric acid levels (23). Although we did not find any significant correlation between plasma glucose levels and uric acid, it is a consensus that glycosuria occurs when the blood glucose concentration is greater than 9.99mmol/L (24).

In contrast to OGTT, we verified an increase of the uric acid, and malondialdehyde levels after OFTT. This probably occurs because the one key difference between fructose and glucose is in the initial carbohydrate metabolism. Fructose is metabolized in the liver by fructokinase, which uses ATP to phosphorylate fructose to fructose-1-phosphate. Unlike hexokinases, which phosphorylate glucose and have a negative feedback system to prevent excessive phosphorylation, fructokinase phosphorylates fructose as rapidly as it can, and this commonly leads to intracellular phosphate depletion. Lower intracellular phosphate levels result in the activation of AMP deaminase, which converts the AMP to inosine monophosphate, and subsequently in hypoxanthine. The enzyme xanthine oxidase catalyzes the oxidation of hypoxanthine to xanthine and then to uric acid, which plays a crucial role in oxidative stress because the action of xanthine oxidase produces superoxide radicals that are derived from reactive oxygen species (25). However, uric acid may contribute to more than 50% of the antioxidant capacity of the blood, and it also has a direct effect on the inhibition of free radicals such as peroxynitrite radical and peroxyl (26).

Patients with type 1 diabetes demonstrate an increased susceptibility to oxidative stress and decreased antioxidant defense because the glucose variability produce an increase lipid peroxidation in cells (27). Malondialdehyde has been found to be an important marker of lipid peroxidation responsible for the oxidative stress and its levels have been found increased in patients with type 1 diabetes (28). Given the importance of oxidative stress in the

development of complications in diabetes, the role of fructose intake induces the activity of xanthine oxidase may have clinical relevance because this enzyme has been involved in the pathogenesis of oxidative stress and several diabetes complications (29).

Our patients reported that fructose was readily diluted to homogeneous solutions. In addition, both sugar solutions had similar sweetness, flavor and aftertaste characteristics. Although authors suggested that the fructose is more soluble in water, and more sweeteners than glucose (2-4), the perceived intensity for sugar taste perception differs across individuals, based on their prior experience, age, gender, genetic taste, and diseases (30). Two studies (31, 32) also showed that the taste sensation was reduced in type 1 diabetics, and the decreased taste acuity may be an important factor in the perception of sweet taste.

Our study has limitations. First, because the stringent eligibility criteria required for participation in our crossover study, the limited sample size and selection for convenience. Thus, the results could not represent what would happen with the entire population of patients with type 1 diabetes (33). Second limitation, we did not evaluate the post challenge glycosuria in patients studied, and the test could explain an increasing renal excretion of uric acid with consequent reduction of serum uric acid levels (23, 25). Like third limitation, we have the time of type 1 diabetes diagnosis, HbA1c levels, BMI, body fat, and waist circumference widely between patients. However, the correlation coefficients were low to moderate (34). The fourth limitation included the hypo- and hyperglycemic episodes at baseline. Although the fasting glucose was not adequate at baseline, the crossover study design reduced the influence of confounding covariates because each crossover patient serves as his or her own control (35). Last limitation was that we included only an acute evaluation of the effect of glucose and fructose in metabolic variables and a long-term follow-up would also be important to determine the benefits and the risks of fructose in patients with type 1 diabetes.

CONCLUSIONS

Considering that fructose intake elicits a lower blood glucose response than glucose and that it did not induce an alteration of the triglycerides, lactate or glucagon levels, we suggest that fructose may be used as a sweetening agent in the diet of type 1 diabetic patient in small amounts. However, the intake of oral fructose tolerance test solution resulted in an increased uric acid and malondialdehyde levels.

Further clinical studies will be needed to better understand the mechanisms, specifically with regard to the uric acid and malondialdehyde metabolism and their potential role in diabetic microvascular complications. In addition, other studies also will be are required to determine the safe amount of these simple sugars for patients with type 1 diabetes.

ACKNOWLEDGEMENTS:

We thank Marcus M.S. Oliveira and our patients for their cooperation.

The study was funded by FAPERJ (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro).

REFERENCES:

1. Gonder-Frederick LA, Cox DJ, Bobbitt SA, Pennebaker JW. Mood changes associated with blood glucose fluctuations in insulin-dependent diabetes mellitus. *Health Psychol*. 1989;8(1):45-59.
2. Bantle JP, Swanson JE, Thomas W, Laine DC. Metabolic effects of dietary fructose in diabetic subjects. *Diabetes Care*. 1992;15(11):1468-76.
3. Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev*. 2005;63(5):133-57.
4. Bray GA. Fructose and risk of cardiometabolic disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2012;14(6):570-8.
5. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2014;37:S81-S90.
6. Crapo PA, Scarlett JA, Kolterman OG. Comparison of the metabolic responses to fructose and sucrose sweetened foods. *Am J Clin Nutr*. 1982;36(2):256-61.
7. Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, *et al*. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sport Exerc*. 2003;35(8):1381-95.
8. WHO. Physical status, the use and interpretation of anthropometry. WHO: Geneva. 1995.
9. WHO. Waist circumference and waist-hip ratio. WHO: Geneva. 2008.
10. Lukaski HC, Johnson PE, Bolonchuk WW, Lykken GI. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr*. 1985;41(4):810-7.
11. Friedewald W, Levy R, Fredrickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18(6):499.

12. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976;16(1):31-41.
13. American Diabetes Association. Foundations of care: education, nutrition, physical activity, smoking cessation, psychosocial care, and immunization. *Diabetes Care*. 2015;38:S20-S30.
14. American Diabetes Association. Nutrition therapy recommendations for the management of adults with diabetes. *Diabetes Care*. 2014;37:S120-S43.
15. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*. 1991;40(4):405-12.
16. Bantle JP, Laine DC, Thomas JW. Metabolic effects of dietary fructose and sucrose in types I and II diabetic subjects. *JAMA*. 1986;256(23):3241-6.
17. Livesey G, Taylor R, Hulshof T, Howlett J. Glycemic response and health--a systematic review and meta-analysis: the database, study characteristics, and macronutrient intakes. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(1):223S-36S.
18. Hughes TA, Atchison J, Hazelrig JB, Boshell BR. Glycemic responses in insulin-dependent diabetic patients: effect of food composition. *Am J Clin Nutr*. 1989;49(4):658-66.
19. Grigoresco C, Rizkalla SW, Halfon P, Bornet F, Fontvieille AM, Bros M, *et al*. Lack of detectable deleterious effects on metabolic control of daily fructose ingestion for 2 mo in NIDDM patients. *Diabetes Care*. 1988;11(7):546-50.
20. Malerbi DA, Paiva ES, Duarte AL, Wajchenberg BL. Metabolic effects of dietary sucrose and fructose in type II diabetic subjects. *Diabetes Care*. 1996;19(11):1249-56.
21. Lecoultre V, Egli L, Theytaz F, Despland C, Schneiter P, Tappy L. Fructose-induced hyperuricemia is associated with a decreased renal uric acid excretion in humans. *Diabetes Care*. 2013;36(9):e149-50.

22. Johnson RJ, Perez-Pozo SE, Sautin YY, Manitius J, Sanchez-Lozada LG, Feig DI, *et al*. Hypothesis: could excessive fructose intake and uric acid cause type 2 diabetes? *Endocr Rev*. 2009;30(1):96-116.
23. Erdberg A, Boner G, van Dyk DJ, Carel R. Urine uric acid excretion in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Nephron*. 1992;60(2):134-7.
24. De Gaetano A, Panunzi S, Eliopoulos D, Hardy T, Mingrone G. Mathematical modeling of renal tubular glucose absorption after glucose load. *PloS one*. 2014;9(1):e86963.
25. Cook DG, Shaper AG, Thelle DS, Whitehead TP. Serum uric acid, serum glucose and diabetes: relationships in a population study. *Postgrad Med J*. 1986;62(733):1001-6.
26. Wang H, Meng QH, Chang T, Wu L. Fructose-induced peroxynitrite production is mediated by methylglyoxal in vascular smooth muscle cells. *Life Sci*. 2006;79(26):2448-54.
27. Ceriello A, Ihnat MA. 'Glycaemic variability': a new therapeutic challenge in diabetes and the critical care setting. *Diabetic Med.* 2010;27(8):862-7.
28. Martin-Gallan P, Carrascosa A, Gussinye M, Dominguez C. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications. *Free Radic Biol Med.* 2003;34(12):1563-74.
29. Desco M-C, Asensi M, Márquez R, Martínez-Valls J, Vento M, Pallardó FV, *et al*. Xanthine oxidase is involved in free radical production in type 1 diabetes: protection by allopurinol. *Diabetes.* 2002;51(4):1118-24.
30. Nagy A, Steele CM, Pelletier CA. Differences in swallowing between high and low concentration taste stimuli. *Biomed Res Int*. 2014;2014:813084.
31. Khobragade RS, Wakode SL, Kale AH. Physiological taste threshold in type 1 diabetes mellitus. *Indian J Physiol Pharmacol*.. 2012;56(1):42-7.

32. Hardy SL, Brennand CP, Wyse BW. Taste thresholds of individuals with diabetes mellitus and of control subjects. *J Am Diet Assoc*. 1981;79(3):286-9.
33. Lwanga SK, Lemeshow S. Sample size determination in health studies: a practical manual/SK Lwanga and S. Lemeshow. 1991.
34. Taylor R. Interpretation of the Correlation Coefficient: A Basic Review. *J Diag Med Sonography*. 1990;6(1):35-9.
35. Colditz G, Miller J, Mosteller F. How study design affects outcomes in comparisons of therapy. I: Medical. *Stat Med*. 1989;8(4):441.

TABLES

Table 1 - Baseline characteristcs of the study group

Sex (female/male)	7/9
Age (years)	25.19 ± 8.8 (18 – 54)
Duration of type 1 diabetes (years)	14.88 ± 4.73 (7 – 27)
BMI (kg/m^2)	24.7 ± 3.66 (17.6 – 30.3)
Waist circumference (cm)	84.45 ± 8.24 (67.50 – 96.50)
Body fat (%)	24.05 ± 6.03 (14.30 – 32.90)
Lean body mass (%)	73.05 ± 11.19 (49.10 – 85.70)
Total body water (L)	39.06 ± 7.88 (28.90 – 51.00)
Glycosylated hemoglobin (%)	8.13 ± 1.84 (5.50 – 12.00)
Fructosamine (mcmol/L)	391.94 ± 87.36 (275.00 – 539.00)
Creatinine (µmol/L)	67.18 ± 24.75 (26.52 – 114.92)
Creatinine clearance (mL/s)	3.37 ± 1.29 (1.72 – 6.37)
Total cholesterol (mmol/L)	4.26 ± 1.20 (2.79 – 6.41)
HDL (mmol/L)	1.39 ± 0.46 (0.80 – 2.37)
LDL (mmol/L)	2.48 ± 0.78 (1.26 – 3.92)
Aspartate aminotransferase (units/L)	22.78 ± 8.65 (9.00 – 40.00)
Alanine aminotransferase (units/L)	16.47 ± 5.58 (10.00 – 31.00)
Basal insulin dose (units/kg/d)	0.52 ± 0.22 (0.25 – 1.13)
Total insulin dose (units/kg/d)	0.95 ± 0.33 (0.47 – 1.75)

Data are means ± standard deviations (95% CI).

Table 2 - Sweetness and palatability characteristics of OFTT and OGTT

	OFTT	**OGTT**	**p-value***
Sweetness	0.85 ± 0.92 (0.00 – 3.00)	1.03 ± 1.10 (0.00 – 3.00)	0.78
Flavor	6.23 ± 2.30 (2.70 – 10.00)	5.48 ± 2.89 (0.80 – 9.70)	0.41
Dilution	8.93 ± 1.79 (3.20 – 10.00)	5.20 ± 2.49 (2.10 – 9.80)	<0.01
Aftertaste	3.18 ± 2.96 (0.00 – 9.90)	3.45 ± 2.64 (0.00 – 7.90)	0.61

Data are means ± standard deviations (95% CI)

*p-values were derived by Mann-Whitney test.

Table 3 - Capillary blood glucose concentrations (mmol/L) at baseline and over time the OFTT and OGTT

	Baseline	**Time after intake (minutes)**				**p-value**[†]
		30	**90**	**120**	**180**	
OFTT	8.16 ± 3.00 (2.55 – 11.98)	10.01 ± 3.47 (3.99 – 15.53)	12.68 ± 4.30 (3.32 – 19.20)	13.44 ± 4.61 (3.49 – 19.36)	12.37 ± 5.30 (3.32 – 25.19)	<0.01
OGTT	6.88 ± 3.07 (3.38 – 12.54)	12.49 ± 6.00 (6.10 – 31.19)	21.11 ± 3.41 (15.59 – 27.41)	17.45 ± 4.00 (14.85 – 22.75)	19.22 ± 4.60 (8.82 – 27.80)	<0.01
p-value*	0.23	0.37	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

*p-values were derived by Mann-Whitney test.

[†]p-values were analyzed with repeated measures analysis of variance two-way ANOVA.

Table 4 - Effects of OFTT and OFTT on baseline (T_0) and postprandial (T_{180}) laboratory tests

	OFTT			OGTT			p-value[‡]	p-value[§]
	Levels[*]	**Δ[*]**	**p-value[†]**	**Levels[*]**	**Δ[*]**	**p-value[†]**		
Glucose (mmol/L) T_0	7.97 ± 3.29 (1.94 – 13.04)	4.48 ± 5.57 (-2.71 – 20.70)	<0.01	6.70 ± 3.05 (3.38 – 11.93)	12.98 ± 4.16 (4.38 – 19.75)	<0.01	0.25	<0.01
Glucose (mmol/L) T_{180}	12.47 ± 5.69 (3.05 – 24.64)			19.65 ± 5.22 (6.32 – 28.91)			<0.01	
Triglycerides (mmol/L) T_0	3.56 ± 1.62 (1.60 – 7.54)	0.20 ± 0.66 (-0.61 – 1.94)	0.32	3.85 ± 1.70 (1.60 – 6.77)	-0.24 ± 1.45 (-3.44 – 3.21)	0.20	0.54	0.07
Triglycerides (mmol/L) T_{180}	3.77 ± 1.94 (1.83 – 9.49)			3.60 ± 2.17 (0.77 – 8.10)			0.65	
Lactate (mmol/L) T_0	1.17 ± 0.54 (0.34 – 2.24)	0.13 ± 0.58 (-1.06 – 1.03)	0.21	1.14 ± 0.34 (0.62 – 1.77)	-0.14 ± 0.39 (-0.72 – 0.92)	0.07	0.95	0.05
Lactate (mmol/L) T_{180}	1.30 ± 0.69 (0.36 – 2.96)			0.99 ± 0.35 (0.57 – 1.87)			0.16	
Glucagon (ng/L) T_0	126.93 ± 64.21 (23.45 – 269.54)	13.04 ± 43.76 (-83.00 – 119.64)	0.10	131.46 ± 35.73 (65.10 – 194.05)	-11.06 ± 34.04 (-72.69 – 40.36)	0.43	0.52	0.10
Glucagon (ng/L) T_{180}	139.98 ± 53.12 (50.43 – 229.77)			120.40 ± 34.22 (49.13 – 171.42)			0.20	
Uric acid (µmol/L) T_0	3.48 ± 2.17 (1.70 – 10.90)	0.44 ± 0.84 (-0.60 – 3.20)	<0.01	2.90 ± 0.85 (1,50 – 4,30)	-0.23 ± 0.16 (-0.50 – 0.00)	<0.01	0.66	<0.01
Uric Acid (µmol/L) T_{180}	3.93 ± 2.93 (1.70 – 14.10)			2.66 ± 0.82 (1.50 – 3.80)			0.07	
Malondialdehyde (µmol/L) T_0	10.06 ± 2.06 (6.55 – 12.86)	1.40 ± 1.60 (-0.76 – 4.73)	<0.01	11.78 ± 1.71 (8.22 – 14.02)	-0.27 ± 1.60 (-2.70 – 2.60)	0.40	0.03	<0.01
Malondialdehyde (µmol/L) T_{180}	11.46 ± 1.72 (8.55 – 14.79)			11.50 ± 1.30 (9.58 – 13.91)			0.82	

[*]Means ± standard deviations (95% CI). Delta (Δ): measured as the difference between postprandial and baseline values after each solution.

[†]p-values were derived by analysis of covariance with basal and postprandial values after each solution (Wilcoxon signed rank test).

[‡]p-values were derived by Mann-Whitney test to compare basal and postprandial values between the OFTT and OGTT.

[§]p-values were derived by Mann-Whitney test to compare the difference of delta (Δ) between postprandial (T_{180}) and baseline (T_0) values between the OFTT and OGTT.

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary table 1 - Basal/bolus insulin therapy of the study group

Basal/bolus insulin therapy	**Short-acting insulin analog**	**(%)**	**(n)**
Subcutaneous infusion system	Aspart	50	2
25% (n = 4)	Lispro	25	1
	Glulisina	25	1
Multiple daily injections	**Long-acting insulin analogue**		
75% (n= 12)	Glargine	100	12
	Detemir	0	0
	Short-acting insulin analog		
	Aspart	16.7	2
	Lispro	41.7	5
	Glulisina	41.7	5

Supplementary table 2- Baseline characteristics of the study group on the first and second day study

	1st day	2nd day	p-value†	Δ*
BMI (kg/m^2)	24.23 ± 3.42 (17.6 – 30.3)	24.77 ± 3.45 (17.6 – 29.8)	0.91	2.12 ± 7.29 (0.00 – 29.30)
Waist circumference (cm)	84.32 ± 8.63 (67.50 – 96.50)	85.25 ± 8.18 (67.50 – 96.50)	0.75	0.62 ± 29.62 (-76.00 – 86.00)
Body fat (%)	24.76 ± 6.37 (14.30 – 32.90)	25.09 ± 6.32 (18.70 – 30.00)	0.69	1.91 ± 6.53 (0.00 – 26.30)
Lean body mass (%)	74.95 ± 6.86 (50.20 – 82.80)	73.64 ± 6.78 (49.10 – 85.70)	0.85	4.22 ± 18.50 (-1.90 – 73.70)
Total body water (L)	39.88 ± 6.32 (28.90 – 47.00)	42.12 ± 6.18 (22.70 – 51.00)	0.47	3.39 ± 14.27 (-2.30 – 56.90)
Glycosylated hemoglobin (%)	8.70 ± 1.07 (6.48 – 12.00)	7.38 ± 1.11 (5.50 – 12.00)	0.06	0.56 ± 2.13 (-1.10 – 6.40)
Fructosamine (mcmol/L)	349.87 ± 46.51 (289.00 – 527.00)	347.80 ± 43.85 (275.00 – 539.00)	0.68	-3.50 ± 13.85 (-42.00 – 20.00)
Creatinine (µmol/L)	58.34 ± 22.10 (27.44 – 114.92)	67.11 ± 20.33 (26.52 – 101.04)	0.68	0.01 ± 011 (-22.1 – 17.68)
Creatinine clearance (mL/s)	3.42 ± 1.22 (1.79 – 6.37)	3.24 ± 1.35 (1.72 – 6.21)	0.84	-6.77 ± 42.51 (-1.66 – 1.58)
Total cholesterol (mmol/L)	4.11 ± 1.50 (2.79 – 5.47)	4.35 ± 1.59 (3.49 – 6.41)	0.80	3.62 ± 10.88 (-0.38 – 0.82)
HDL (mmol/L)	1.61 ± 0.49 (0.84 – 2.37)	1.07 ± 0.58 (0.80 – 1.37)	0.33	0.31 ± 3.64 (-0.15 – 0.23)
LDL (mmol/L)	2.96 ± 0.44 (1.47 – 3.92)	2.33 ± 1.27 (1.26 – 2.97)	0.40	3.04 ± 9.50 (-0.32 – 0.78)
Aspartate aminotransferase (units/L)	20.31 ± 6.74 (14.00 – 40.00)	20.19 ± 6.48 (9.00 – 27.00)	0.71	-0.31 ± 2.02 (-5.00 – 4.00)
Alanine aminotransferase (units/L)	16.00 ± 8.13 (10.00 – 18.00)	15.19 ± 8.55 (17.00 – 31.00)	0.27	-2.06 ± 5.55 (-20.00 – 5.00)

Legend: BMI, body mass index.

Means ± standard deviations (95% CI).

‡p-values were derived by Mann-Whitney test to compare first and second day.

*Δ (delta): measured as the difference between second and first day, when the washout period exceed 15 days.

Supplementary table 3 - Regular physical activity of the study group

Classification	Total		Female		Male	
	(%)	**(n)**	**(%)**	**(n)**	**(%)**	**(n)**
Sedentary	0	0	0	0	0	0
Insufficiently active A	6.30	1	14.3	1	0	0
Insufficiently active B	31.30	5	14.3	1	44.4	4
Active	18.80	3	14.3	1	22.2	2
Very active	43.8	7	57.1	4	33.3	3
TOTAL	100	16	100	7	100	9

Supplementary table 4 - Usual dietary intake of the study group

TEI (kcal)	1,959.63 ± 706.22 (803.98 – 4,416.95)
Carbohydrate (% TEI)	48.19 ± 08.43 (33.00 – 65.68)
Protein (% TEI)	19.87 ± 6.02 (9.38 – 33.10)
Fat (% TEI)	32.34 ± 7.55 (13.61 – 48.02)
Saturated fatty acids (% TEI)	8.13 ± 3.68 (2.17 – 21.18)
Polyunsaturated fatty acids (% TEI)	7.27 ± 3.26 (2.09 – 15.81)
Monounsaturated fatty acids (% TEI)	10.07 ± 6.08 (2.12 – 33.79)
Fiber (g)	28.92 ± 17.73 (6.06 – 67.99)

Legend: TEI, total energy intake.

Data are means ± standard deviations (95% CI)

Supplementary table 5 - Regression coefficients between variables of interest and the difference of delta (Δ) between postprandial (T_{180}) and baseline (T_0) values between the OGTT and OFTT

	Glucose (Δ)		Triglycerides (Δ)		Lactate (Δ)		Glucagon (Δ)		Uric acid (Δ)		Malondialdehyde (Δ)	
	R	ρ	R	P	R	ρ	R	ρ	R	ρ	R	ρ
Duration of disease (years)	0.09	0.19	0.12	0.01	0.17	0.13	0.09	0.19	0.04	-0.13	0.32	0.32
BMI (kg/m^2)	0.10	-0.13	0.15	-0.18	0.15†	0.38†	0.27	-0.19	0.31	0.32	0.34	-0.30
Waist circumference (cm)	0.11	0.44	0.03	0.73	0.43†	0.24†	0.16	0.24	0.12	0.11	0.32	0.70
Body fat (%)	0.11	0.12	0.27	0.05	0.37†	0.38†	0.06	< 0.01	0.28	-0.06	0.15	-0.14
Glycosylated hemoglobin (%)	0.30	0.09	0.02	0.61	0.28	0.29	0.07	0.90	0.12	0.44	0.20	0.56

Legend: BMI, body mass index.

R, regression coefficient

ρ, Spearman correlation coefficient.

†p-value=0.03; §p-value<0.01.

8. NOTAS METODOLÓGICAS

Além dos resultados descritos no manuscrito "*Postprandial metabolic effects of fructose and glucose in patients with type 1 diabetes: A randomized crossover clinical trial*", é relevante salientar outras informações sobre os participantes do estudo:

8.1. Descrição da ingestão dietética habitual dos participantes

De acordo com as recomendações da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2015), cinco (31,25%) voluntários apresentaram dieta normocalórica, um (n=1; 6,25%) consumiu dieta hipercalórica e dez (62,50%) ingeriram dieta hipocalórica.

Conforme descrito na tabela suplementar "*Supplementary table 4 – Usual dietary intake of the study group*" (página 85), a maioria (n=10; 62,5%) dos voluntários apresentou ingestão normoproteica, normoglicídica e hiperlipídica. Observando individualmente, dois (12,5%) apresentaram ingestão hiperglicídica, cinco (31,25%) consumiram dieta hiperproteica e oito (50%) apresentaram ingestão hiperlipídica. Seis (37,5%) indivíduos demonstraram consumo de ácidos graxos saturados acima do preconizado, contudo, todos apresentaram ingestão de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados dentro do percentual recomendado. A ingestão de fibras mostrou-se adequada por todos os participantes.

8.2. Análise de variáveis que poderiam alterar o efeito das soluções de frutose e glicose nas variáveis avaliadas

Como descrito no manuscrito, algumas variáveis de caracterização apresentaram elevado desvio padrão e IC, demonstrando variabilidade entre os voluntários que participaram do estudo.

Apesar da média de IMC demonstrar que a maioria dos voluntários pode ser classificada como indivíduos eutróficos (24,7 ± 3,66 kg/m^2; n= 8; 50%), o IC do IMC varia de 17,6 a 30,30 kg/m^2, decorrentes de um (1) caso de magreza, seis casos de sobrepeso e um (1) caso de obesidade (WHO, 1995).

Na classificação dos voluntários quanto ao perímetro da cintura, três mulheres e dois homens apresentaram valores acima das recomendações de 80cm e 90cm, respectivamente (Alberti *et al*., 2006). Apenas um (1) homem e três mulheres apresentaram percentual de massa gorda acima das recomendações de 14-25% e 23-32% para homens e mulheres adultos, respectivamente (Lohman *et al*., 1991).

A tabela suplementar "*Supplementary table 5 – Regression coefficients between variables of interest and the difference of delta (Δ) between postprandial (T180) and baseline (T0) values between the solutions*" (página 86) apresenta as contribuições relativas das variáveis de caracterização na intervenção.

As concentrações de lactato foram associadas positivamente ao IMC (ρ=0,38; r=0,03), massa gorda (r=0,37 e ρ=0,38; r=0,03) e perímetro da cintura (r=0,43 e ρ=0,38; p=0,02), enquanto que a idade foi associada positivamente aos triglicerídeos.

A associação positiva da idade com as concentrações de triglicerídeos (r=0,52; p<0,01) é decorrente do processo natural do envelhecimento. Esta alteração fisiológica promove mudanças anatômicas e funcionais no organismo, com repercursões sobre a lipemia, incluindo elevação das concentrações de triglicerídeos (Alexander *et al*., 2008). As mulheres na pós-menopausa são mais susceptíveis a apresentarem alterações no metabolismo lipídico, devido à privação estrogênica, que eleva as concentrações de colesterol total, LDL e triglicerídeos (Pasquali *et al*., 1997). No entanto, nosso estudo incluiu apenas uma (1) voluntária menopausada. Ademais, os coeficientes de correlação foram fracos a moderados,

considerando que quanto mais próximo de 1 for o valor absoluto do coeficiente, mais intensa é a relação linear entre as duas variáveis (Taylor, 1990).

Do mesmo modo que os triglicerídeos, não foram observadas diferenças entre soluções quanto as concentrações de lactato, ressaltando que o delineamento *crossover* do estudo fez com que o efeito de características físicas do voluntário fosse reduzido (Colditz *et al*., 1989) para comparar a influência de duas diferentes intervenções/soluções

8.3. Comparação do efeito das soluções de glicose e frutose, estratificados por sexo

A amostra estudada foi constituída por maior percentual de indivíduos do sexo masculino (n=9; 56,25%), comparado ao feminino (n=7; 43,75%).

Avaliando se o gênero poderia alterar o efeito da intervenção, estratificamos os resultados por sexo. A seguir (tabela 1) podemos observar que não houve diferença entre sexos, não diferindo dos resultados da tabela "*Table 4 – Effects of oral fructose and glucose tolerance test solutions on baseline (T_0) and postprandial (T_{180}) laboratory tests"* (página 81) do manuscrito.

Tabela 1 - Comparação das variáveis laboratoriais basais (T_0) e pós-prandiais (T_{180}) entre as soluções de glicose e frutose, por sexo dos pacientes com diabetes mellitus tipo 1.

Sexo	Variáveis	SOLUÇÃO DE FRUTOSE				SOLUÇÃO DE GLICOSE				p-valor[§]	p-valor[‡]
		Concentração[*]	Δ[*]	p-valor[‖]	p-valor[▪]	Concentração[*]	Δ[*]	p-valor[‖]	p-valor[▪]		
Masculino	Glicemia (mmol/L) T_0	7,57 ± 3,66 (1,94 – 12,55)	4,44 ± 6,33 (-0,11 – 20,72)	0,01	0,56	7,00 ± 3,16 (3,38 – 11,94)	11,44 ± 4,00 (-1,11 – 0,11)	<0,01	0,06	0,74	0,04
	Glicemia (mmol/L) T_{180}	12,00 ± 6,00 (3,61 – 24,66)				18,50 ± 5,27 (8,00 – 27,38)				0,01	
Feminino	Glicemia (mmol/L) T_0	8,50 ± 2,83 (4,61 – 13,05)	4,50 ± 4,83 (-2,72 – 12,11)	0,04		6,94 ± 1,61 (3,50 – 11,94)	15,27 ± 3,00 (12,55 – 19,77)	0,01		0,37	<0,01
	Glicemia (mmol/L) T_{180}	13,00 ± 5,66 (3,05 – 20,94)				22,27 ± 4,66 (16,05 – 28,94)				<0,01	
Masculino	Triglicerídeos (mmol/L) T_0	3,16 ± 1,05 (1,61 – 4,72)	-0,11 ± 0,33 (-0,50 – 0,61)	0,31	0,06	3,55 ± 1,77 (1,61 – 6,77)	-0,61 ± 1,27 (-3,44 – 1,94)	0,10	0,08	0,80	0,07
	Triglicerídeos (mmol/L) T_{180}	3,05 ± ,88 (1,83 – 4,44)				2,94 ± 2,00 (0,77 – 8,00)				0,34	
Feminino	Triglicerídeos (mmol/L) T_0	4,00 ± 2,11 (2,22 – 7,55)	0,61 ± 0,72 (-0,61 – 1,94)	0,12		4,00 ± 1,66 (2,00 – 6,66)	0,27 ± 1,38 (-1,50 – 3,22)	0,67		0,89	0,27
	Triglicerídeos (mmol/L) T_{180}	4,61 ± 2,55 (2,77 – 9,50)				4,33 ± 2,11 (2,11 – 8,11)				0,74	

[*]Média ± desvio padrão (intervalo de confiança de 95%). Δ (delta) = calculado como a diferença entre os valores pós-prandiais e basais após cada uma das soluções.

[‖]p-valor obtido pelo teste de Wilcoxon para comparação entre os valores basais e pós-prandiais de cada solução.

[▪]p-valor obtido pelo teste de Wilcoxon para comparação entre sexo dos valores basais e pós-prandiais de cada solução.

[§]p-valor obtido pelo teste de Mann-Whitney para comparação dos momentos basais e pós-prandiais entre as soluções de glicose e frutose.

[‡]p-valor obtido pelo teste de Mann-Whitney para comparação das variações (Δ = delta) entre grupos.

Tabela 1 - Comparação das variáveis laboratoriais basais (T_0) e pós-prandiais (T_{180}) entre as soluções de glicose e frutose, por sexo dos pacientes com diabetes mellitus tipo 1 (continuação).

Sexo	Variáveis	SOLUÇÃO DE FRUTOSE				SOLUÇÃO DE GLICOSE				p-valor[§]	p-valor[‡]
		Concentração[*]	Δ[*]	p-valor[‖]	p-valor[▪]	Concentração[*]	Δ[*]	p-valor[‖]	p-valor[▪]		
Masculino	Lactato (mmol/L) T_0	1.22 ± 0.24 (0.44 – 2.14)	0,05 ± 0,22 (-0,50 – 0,96)	0,31	0,06	1,16 ± 0,26 (0,87 – 0,98)	-0,05 ± 0,22 (-0,33 – 0,44)	0,09	0,56	0,68	0,08
	Lactato (mmol/L) T_{180}	1.29 ± 0.59 (0.46 – 2.96)				8,92 ± 4,08 (5,20 – 16,90)				0,90	
Feminino	Lactato (mmol/L) T_0	0,61 ± 0,16 (033 – 1,00)	0,27 ± 0,16 (0,05 – 0,50)	0,07		0,61 ± 0,16 (0,38 – 0,88)	-0,11 ± 0,16 (-0,33 – 0,11)	0,12		0,89	0,07
	Lactato (mmol/L) T_{180}	0,88 ± 0,33 (0,38 – 1,44)				0,50 ± 0,02 (0,44 – 0,55)				0,09	
Masculino	Glucagon (ng/L) T_0	120,56 ± 82,60 (23,45 – 269,54)	-4,22± 37,50 (-83,00 – 35,95)	0,77	0,36	123,43 ± 39,57 (65,10 – 194,05)	-5,59 ± 33,57 (-72,69 – 40,36)	0,88	0,95	0,67	0,75
	Glucagon (ng/L) T_{180}	116,33 ± 52,32 (50,43 – 188,54)				117,84 ± 41,17 (49,13 – 171,42)				1,00	
Feminino	Glucagon (ng/L) T_0	133,99 ± 47,28 (80,97 – 204,67)	29,33 ± 48,41 (-0,76 – 4,73)	0,09		139,05 ± 34,50 (83,37 – 192,53)	-13,32 ± 37,49 (-68,32 – 27,26)	0,49		0,56	0,11
	Glucagon (ng/L) T_{180}	163,38 ± 48,67 (93,66 – 229,77)				125,73 ± 29,36 (87,98 – 159,92)				0,08	

[*]Média ± desvio padrão (intervalo de confiança de 95%). Δ (delta) = calculado como a diferença entre os valores pós-prandiais e basais após cada uma das soluções.

[‖]p-valor obtido pelo teste de Wilcoxon para comparação entre os valores basais e pós-prandiais de cada solução.

[▪]p-valor obtido pelo teste de Wilcoxon para comparação entre sexo dos valores basais e pós-prandiais de cada solução.

[§]p-valor obtido pelo teste de Mann-Whitney para comparação dos momentos basais e pós-prandiais entre as soluções de glicose e frutose.

[‡]p-valor obtido pelo teste de Mann-Whitney para comparação das variações (Δ = delta) entre grupos.

Tabela 1 - Comparação das variáveis laboratoriais basais (T_0) e pós-prandiais (T_{180}) entre as soluções de glicose e frutose, por sexo dos pacientes com diabetes mellitus tipo 1 (continuação).

Sexo	Variáveis	SOLUÇÃO DE FRUTOSE				SOLUÇÃO DE GLICOSE				p-valor[§]	p-valor[‡]
		Concentração[*]	Δ[*]	p-valor[‖]	p-valor[▪]	Concentração[*]	Δ[*]	p-valor[‖]	p-valor[▪]		
Masculino	Ácido úrico (µmol/L) T_0	256,35 ± 151,07 (145,13 – 648,33)	40,44 ± 61,26 (-571,00 – 184,38)	0,01	0,33	201,04 ± 40,44 (113,01 – 255,76)	-13,08 ± 9,51 (-29,74 – 0,00)	<0,01	0,87	0,68	<0,01
	Ácido úrico (µmol/L) T_{180}	296,80 ± 126,69 (109,44 – 832,71)				187.95 ± 35.68 (107,06 – 226,02)				0,03	
Feminino	Ácido úrico (µmol/L) T_0	143,94 ± 54,72 (101,11 – 255,76)	8,32 ± 24,98 (-35,68 – 47,58)	<0.01		123,71 ± 22,00 (89,22 – 154,64)	-14.27 ± 10,11 (-29,74 – 0,00)	0,02		0,74	0,04
	Ácido úrico (µmol/L) T_{180}	152,82 ± 70,18 (101,11 – 303,34)				109.44 ± 16.65 (89.22 – 142,75)				0,06	
Masculino	Malondialdeído (µmol/L) T_0	31,25 ± 6,45 (21,08 – 40,44)	4,70 ± 4.,08 (-1,49 – 13,67)	0,02	0,56	38,22 ± 4,22 (0,09 – 1,65)	-2,38 ± 5,40 (-8,58 – 8,26)	0,26	0,42	0,04	0,02
	Malondialdeído (µmol/L) T_{180}	35,96 ± 2,38 (33,07 – 40,60)				35,80 ± 5,27 (30,46 – 44,23)				0,52	
Feminino	Malondialdeído (µmol/L) T_0	31,70 ± 6,96 (0,76 – 1,49)	3,75 ± 6,01 (-1,90 – 2,54)	0,04		36,50 ± 7,18 (26,13 – 44,90)	0,44 ± 4,96 (-4.38 – 7,95)	0.40		0,02	0,02
	Malondialdeído (µmol/L) T_{180}	35,48 ± 6,93 (20,82 – 40,76)				36,94 ± 2,79 (34,08 – 42,10)				0,48	

[*]Média ± desvio padrão (intervalo de confiança de 95%). Δ (delta) = calculado como a diferença entre os valores pós-prandiais e basais após cada uma das soluções.

[‖]p-valor obtido pelo teste de Wilcoxon para comparação entre os valores basais e pós-prandiais de cada solução.

[▪]p-valor obtido pelo teste de Wilcoxon para comparação entre sexo dos valores basais e pós-prandiais de cada solução.

[§]p-valor obtido pelo teste de Mann-Whitney para comparação dos momentos basais e pós-prandiais entre as soluções de glicose e frutose.

[‡]p-valor obtido pelo teste de Mann-Whitney para comparação das variações (Δ = delta) entre grupos.

9. **CONCLUSÕES**

- Ambas as soluções elevaram a glicemia pós-prandial, porém, a solução de glicose promoveu maior glicemia comparada à solução contendo frutose.
- As soluções não alteraram as concentrações de glucagon e a trigliceridemia pós-prandial.
- As concentrações de ácido úrico elevaram-se com a solução de frutose e reduziram após a ingestão de glicose.
- A solução contendo frutose elevou as concentrações de malondialdeído pós-prandiais.
- Apesar da solução de glicose apresentar menor diluição, as demais características de palatabilidade das soluções de frutose e glicose foram semelhantes.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Considerando-se que a frutose promoveu menor glicemia pós-prandial comparada à glicose, e não alterou as concentrações de triglicerídeos, sugere-se que a frutose poderia ser utilizada como um agente edulcorante na dieta do paciente com DM1. Apesar de ter se mostrado benéfica para algumas variáveis, salienta-se que houve efeito indesejável sobre as concentrações de ácido úrico e de malondialdeído, ainda que em grandes quantidades ofertadas, não sendo possível avaliar se quantidades inferiores também ocasionariam tal efeito.
- São necessários mais estudos clínicos para determinar a quantidade segura destes açúcares para pacientes com DM1, assim como para compreender o efeito pós-prandial da elevação do ácido úrico e malondialdeído nas complicações microvasculares desta população. Também, deve ser avaliada a ingestão de glicose e frutose isoladamente e em associação (na forma de sacarose) em médio e longo prazo a fim de confirmar os resultados obtidos no presente estudo.

11. SUGESTÕES DE CONTINUIDADE DO ESTUDO

- Avaliar a influência pós-prandial de soluções contendo menores quantidades de glicose e frutose (30 ou 50g), observando se também são capazes de afetar as concentrações de glicose, ácido úrico e malondialdeído de pacientes com DM1;
- Analisar o efeito de soluções contendo 50% de glicose + 50% de frutose (equivalente à sacarose) e de 30% de glicose + 70% de frutose (equivalente ao xarope de milho rico em frutose) nas variáveis de glicemia, triglicerídeos, glucagon, ácido úrico, lactato e malondialdeído;
- Avaliar as variáveis contempladas no presente estudo em pacientes com DM2, observando também a secreção endógena de insulina. Os voluntários selecionados devem ter menos de dez anos do diagnóstico de DM2 a fim de possuírem secreção residual de insulina e não estarem utilizando antidiabéticos e/ou insulina exógena. A pesquisa comprovaria se a frutose estimula ou não a secreção de insulina, conforme descrito por autores (Curry *et al*., 1972; Curry, 1989) e contra-argumentado por outros (Kyriazis *et al*., 2012; Seino *et al*., 2015).

12. REFERÊNCIAS

- ABDULRHMAN, M., *et al*. The glycemic and peak incremental indices of honey, sucrose and glucose in patients with type 1 diabetes mellitus: effects on C-peptide level—a pilot study. **Acta Diabetol,**v. 48, p. 48:89–94, 2011.
- ADA. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Nutrition therapy recommendations for the management of adults with diabetes. **Diabetes Care**, v. 37, n. 1, p. S120-43, 2014.
- _____. Classification and diagnosis of diabetes. **Diabetes Care**, v. 38, n. 1, p. S8-S16, 2015a.
- _____. Foundations of care: education, nutrition, physical activity, smoking cessation, psychosocial care, and immunization. **Diabetes Care**, v. 38, n. 1, p. S20-S30, 2015 b.
- ALBERTI, K. G.; ZIMMET, P.; SHAW, J. Metabolic syndrome-a new world-wide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. **Diabet Med**, v. 23, n. 5, p. 469-80, 2006.
- ALEXANDER, C. M.; LANDSMAN, P. B.; GRUNDY, S. M. The influence of age and body mass index on the metabolic syndrome and its components. **Diabetes Obes Metab**, v. 10, n. 3, p. 246-50, 2008.
- ANDERSON, D. Antioxidant defenses against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutat Res**, v. 350, n. 1, p.103-8, 1996.
- ANGELOPOULOS, T. J. *et al*. The effect of high-fructose corn syrup consumption on triglycerides and uric acid. **J Nutr**, v. 139, n. 6, p. 1242S-5S, Jun 2009.
- BANTLE, J. P. Clinical aspects of sucrose and fructose metabolism. **Diabetes Care**, v. 12, n. 1, p. 56-61, 1989.
- BANTLE, J. P. Dietary fructose and metabolic syndrome and diabetes. **J Nutr**, v. 139, n. 6, p. 1263S-8S, 2009.
- BANTLE, J. P. *et al*. Metabolic effects of dietary fructose in diabetic subjects. **Diabetes Care,** v. 15, n. 11, p. 1468-76, 1992.
- BENER, A. *et al*. High prevalence of vitamin D deficiency in type 1 diabetes mellitus and healthy children. **Acta Diabetol**, v. 46, n. 3, p. 183-9, 2009.
- BERGAMINI, C. *et al*. Oxidative stress and hyperuricaemia: pathophysiology, clinical relevance, and therapeutic implications in chronic heart failure. **Eur J Heart Fail**, v. 11, n. 5, p. 444-52, 2009.
- BIRGISDOTTIR, B. E. *et al*. Lower consumption of cow milk protein A1 beta-casein at 2 years of age, rather than consumption among 11- to 14-year-old adolescents, may explain the lower incidence of type 1 diabetes in Iceland than in Scandinavia. **Ann Nutr Metab**, v. 50, n. 3, p. 177-83, 2006.
- BIROS, E.; JORDAN, M. A.; BAXTER, A. G. Genes mediating environment interactions in type 1 diabetes. **Rev Diabet Stud**, v. 2, n. 4, p. 192-207, 2005.
- BJORNSTAD, P. *et al*. Serum uric acid predicts vascular complications in adults with type 1 diabetes: the coronary artery calcification in type 1 diabetes study. **Acta Diabetol**, v. 51, n. 5, p. 783-91, 2014.

- BLOOMGARDEN, Z. T. Type 1 diabetes and hypoglycemia. **Diabetes Care**, v. 32, n. 1, p. e1-4, 2009.
- BOFF, C.; AMARAL, J. A. D.; BONATO, C. O uso correto dos adoçantes. **Acta Med (Porto Alegre)**, v. 32, p. 403-14, 2011.
- BOHANNON, N. V.; KARAM, J. H.; FORSHAM, P. H. Endocrine responses to sugar ingestion in man. Advantages of fructose over sucrose and glucose. **J Am Diet Assoc**, v. 76, n. 6, p. 555-60, 1980.
- BOITARD, C. Pancreatic islet autoimmunity. **Presse Med**, v. 41, n. 12, p. e636-50, 2012.
- BONER, G.; RIESELBACH, R. E. The effect of glucose upon reabsorptive transport of urate by the kidney. **Adv Exp Med Biol**, v. 41, p. 781-7, 1974.
- BORNET F. R. J. *et al*. Glycaemic response to foods: Impact on satiety and long-term weight regulation. **Appetite**, v. 49, n. 3, p. 535-53, 2007.
- BORKAR, V. V. *et al*. Low levels of vitamin D in North Indian children with newly diagnosed type 1 diabetes. **Pediatr Diabetes**, v. 11, n. 5, p. 345-50, 2010.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 271, de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial da União.** Regulamento técnico para açúcares e produtos para adoçar. Brasília, DF, 22 set. 2005. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ca624500474594079ba5df3fbc4c6735/RDC_271_2005.pdf>. Acesso em 22 jan. 2015.
- Brennan, C.S. Dietary fiber, glycemic response, and diabetes. **Mol Nutr Food Res**, v.49, p.560-570, 2005.
- BRENNER, B. M.; MEYER T. W.; HOSTETTER T. H. H. Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. **N Engl J Med**, v. 307, n. 11, p. 652-9, 1982.
- BROWN, R. J.; SINAII, N.; ROTHER, K. I. Too much glucagon, too little insulin: time course of pancreatic islet dysfunction in new-onset type 1 diabetes. **Diabetes Care**, v. 31, n. 7, p. 1403-4, 2008.
- BULUM, T.; DUVNJAK, L.; PRKACIN, I. Estimated glucose disposal rate in assessment of renal function in patients with type 1 diabetes. **Coll Antropol**, v. 36, n. 2, p. 459-65, 2012.
- CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States**, 2011: Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention Atlanta 2011. Disponível em: <http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/pdf/ndfs_2011.pdf>. Acesso em 05 jan 2015.
- CARVALHEIRA, J. B. C.; ZECCHIN, H. G.; SAAD, M. J. A. Vias de sinalização da insulina. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 46, n. 4, p. 419-25, 2002.
- CARVALHO, A. P. V. D.; SILVA, V.; GRANDE, A. J. Avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados pela ferramenta da colaboração Cochrane. **Diagn Tratamento**, v. 18, n. 1, p. 38-44, 2013.

- CERIELLO, A. *et al*. Long-term glycemic control influences the long-lasting effect of hyperglycemia on endothelial function in type 1 diabetes. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 94, n. 8, p. 2751-6, 2009.
- CERIELLO, A. *et al*. Effect of acute hyperglycaemia, long-term glycaemic control and insulin on endothelial dysfunction and inflammation in type 1 diabetic patients with different characteristics. **Diabet Med**, v. 27, n. 8, p. 911-7, 2010.
- CERIELLO, A. *et al*. Hyperglycemia following recovery from hypoglycemia worsens endothelial damage and thrombosis activation in type 1 diabetes and in healthy controls. **Nutr Metab Cardiovasc Dis,** v. 24, n. 2, p. 116-23, 2014.
- CHIAVAROLI, L. *et al*. Effect of fructose on established lipid targets: a systematic review and meta-analysis of controlled feeding trials. **J Am Heart Assoc**., v. 4, n. 9, p. e001700, 2015.
- COCKCROFT, D. W.; GAULT, M. H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. **Nephron**, v. 16, n. 1, p. 31-41, 1976.
- COLDITZ, G. A.; MILLER, J. N.; MOSTELLER, F. How study design affects outcomes in comparisons of therapy. I: Medical. **Stat Med**, v. 8, n. 4, p. 441-54, 1989.
- COPPELL K. J. *et al*. Nutritional intervention in patients with type 2 diabetes who are hyperglycaemic despite optimised drug treatment--Lifestyle Over and Above Drugs in Diabetes (LOADD) study: randomised controlled trial. **BMJ**, v. 341, p. 3337c, 2010.
- COUCH, S. C. *et al*. Fructose intake and cardiovascular risk factors in youth with type 1 diabetes: search for diabetes in youth study. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 100, n. 2, p. 265-71, 2013.
- CRAPO, P. A.; SCARLETT, J. A.; KOLTERMAN, O. G. Comparison of the metabolic responses to fructose and sucrose sweetened foods. **Am J Clin Nutr**, v. 36, n. 2, p. 256-61, 1982.
- CRYER, P. E. Banting Lecture. Hypoglycemia: the limiting factor in the management of IDDM. **Diabetes**, v. 43, n. 11, p. 1378-89, 1994.
- CRYER, P. E. Minireview: Glucagon in the pathogenesis of hypoglycemia and hyperglycemia in diabetes. **Endocrinol**, v. 153, n. 3, p. 1039-48, 2012.
- CUMMINGS, J. H.; STEPHEN, A. M. Carbohydrate terminology and classification. **Eur J Clin Nutr**, v. 61, p. S5-18, 2007.
- CURA, A. J.; CARRUTHERS, A. Role of monosaccharide transport proteins in carbohydrate assimilation, distribution, metabolism, and homeostasis. **Compr Physiol**, v. 2, n. 2, p. 863-914, 2012.
- CURRY, D. L. Effects of mannose and fructose on the synthesis and secretion of insulin. **Pancreas**, v. 4, n. 1, p. 2-9, 1989.
- CURRY, K. P.; GOMEZ, M. Fructose potentiation of insulin secretion. **Endocrinol**, v. 91, n. 6, p. 1493-8, 1972.
- DALY, M. E. *et al*. Acute fuel selection in response to high-sucrose and high-starch meals in healthy men. **Am J Clin Nutr**, v. 71, n. 6, p. 1516-24, 2000.

- DAVISON, K. A. *et al*. Relationship between adherence to diet, glycemic control and cardiovascular risk factors in patients with type 1 diabetes: a nationwide survey in Brazil. **Nutr J**, v. 13, p. 19, 2014.
- DCCT. The Diabetes Control and Complications Trial. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. **N Engl J Med**, v. 329, p. 977-86, 1993.
- DEL RIO, D.; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 15, n. 4, p. 316-28, 2005.
- DINNEEN, S. *et al*. Failure of glucagon suppression contributes to postprandial hyperglycaemia in IDDM. **Diabetologia**, v. 38, n. 3, p. 337-43, 1995.
- DU, X. L. *et al*. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. **Proc Natl Acad Sci**, v. 97, p. 12222-6, 2000.
- DUFOUR, D. R. *et al*. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring. **Clin Chem**, v. 46, n. 12, p. 2050-68, 2000.
- DURINOVIC-BELLO, I. Autoimmune diabetes: the role of T cells, MHC molecules and autoantigens. **Autoimmunity**, v. 27, n. 3, p. 159-77, 1998.
- FAN, H. Q. *et al*. Association of serum uric acid with 2-hour postload glucose in Chinese with impaired fasting plasma glucose and/or HbA1c. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e67759, 2013.
- FAUSTMAN, D. L.; DAVIS, M. The primacy of CD8 T lymphocytes in type 1 diabetes and implications for therapies. **J Mol Med**, v. 87, n. 12, p. 1173-8, 2009.
- FEINGOLD, K. R., GRUNFELD C. Diabetes and Dyslipidemia. In: De Groot LJ, *et al*. (Org.). Endotext. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc, 2000 (Atualizado em: Jun 2015). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305900/>.Acesso em: jul. 2015.
- FERREIRA, S. R. G.; *et al*. Population-Based Incidence of IDDM in the State of São Paulo, Brazil. **Diabetes Care**, v. 16, p. 701-4, 1993.
- FONTANIVE, R. *et al*. **Inquéritos dietéticos**. In: DUARTE, A. C. G.; CASTELLANI, F. R. (Org.). Semiologia Nutricional. Rio de Janeiro: Axcel Books do Brasil Editora, 2002, p. 59-78.
- FOSTER-POWELL, K.; HOLT, S. H.; BRAND-MILLER, J. C. International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. **Am J Clin Nutr**, v. 76, n. 1, p. 5-56, 2002.
- Franz MJ, *et al*. Nutritional principles for the management of diabetes and related complications. **Diabetes Care** 1994; v. 17, p. 490-518.
- FREDHEIM, S. *et al*. The influence of glucagon on postprandial hyperglycaemia in children 5 years after onset of type 1 diabetes. **Diabetologia**, v. 58, n. 4, p. 828-34, 2015.
- FREIRE, R. M. L. **Estudo da estabilidade térmica de adoçantes naturais e artificiais**. 2010. 132 f. Dissertação (Mestrado em Físico-Química; Química) - Universidade Federal

do Rio Grande do Norte, Natal, 2010. Disponível em: <http://repositorio.ufrn.br/jspui/handle/123456789/17636>. Acesso em 22 fev. 2015.

- FRIEDEWALD, W.; LEVY, R.; FREDRICKSON, D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin Chem**, v. 18, n. 6, p. 499, 1972.
- FRISK, G. *et al*. A unifying hypothesis on the development of type 1 diabetes and celiac disease: gluten consumption may be a shared causative factor. **Med Hypotheses**, v. 70, n. 6, p. 1207-9, 2008.
- FU, Z.; GILBERT, E. R.; LIU, D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. **Curr Diabetes Rev**, v. 9, n. 1, p. 25-53, 2013.
- GABBAY, K. H.; MEROLA, L. O.; FIELD, R. A. Sorbitol pathway: presence in nerve and cord with substrate accumulation in diabetes. **Science** v. 151, p. 209–10, 1966.
- GABRIELY, I. *et al*. Fructose amplifies counterregulatory responses to hypoglycemia in humans. **Diabetes**, v. 51, n. 4, p. 893-900, 2002.
- GARCIA, L. M. T.; OSTI, R. F. I.; RIBEIRO, E. H. C.; FLORINDO, A. A. Validação de dois questionários para a avaliação da atividade física em adultos. **Rev Bras Ativ Fis Saude**, v. 18, n. 3, p. 317-8, 2013.
- GARDNER, C. *et al*. Nonnutritive sweeteners: current use and health perspectives: a scientific statement from the American Heart Association and the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, v. 35, n. 8, p. 1798-808, 2012.
- GEIL, P. B. Choose your foods: exchange lists for diabetes: the 2008 revision of exchange lists for meal planning. **Diabetes Spectr**, v. 21, n. 4, p. 281-3, 2008.
- GERRITS, P. M.; TSALIKIAN, E. Diabetes and fructose metabolism. **Am J Clin Nutr**, v. 58, n. 5, p. 796S-799S, 1993.
- GHANIM, H. *et al*. Orange juice or fructose intake does not induce oxidative and inflammatory response. **Diabetes Care**, v. 30, n. 6, p. 1406-11, 2007.
- GILLESPIE, S. J.; KULKARNI, K. D.; DALY, A. E. Using carbohydrate counting in diabetes clinical practice. **J Am Diet Assoc**, v. 98, n. 8, p. 897-905, 1998.
- GINSBERG, B. H. **System for determining insulin dose using carbohydrate to insulin ratio and insulin sensitivity factor.** U.S. Patent n. 7,404,796, 29 jul. 2008.
- GIUNTINI, E. B.; LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. D. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos TBCA-USP no contexto internacional. **Arch Latinoam Nutr,** v. 56, n. 4, p. 366-74, 2006.
- GOMES, R. D. P. *et al*. **Ensaios clínicos no Brasil: competitividade internacional e desafios**. BNDES Setorial, n. 36, set. 2012, p. 45-84, 2012. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/set3602.pdf>. Acesso em 04 set 2015.
- GREENBAUM, C. J.; HARRISON, L. C. Guidelines for intervention trials in subjects with newly diagnosed type 1 diabetes. **Diabetes**, v. 52, n. 5, p. 1059-65, 2003.
- GREENBAUM, C. J. *et al*. Mixed-meal tolerance test versus glucagon stimulation test for the assessment of beta-cell function in therapeutic trials in type 1 diabetes. **Diabetes Care**, v. 31, n. 10, p. 1966-71, 2008.

- GUIMARÃES, A. C.; BAHIA, L. R. Eficácia e segurança do análogo de insulina ultra-lento Insulina Degludec, no tratamento do diabetes mellitus tipo 1 e 2. **Revista HCPA. Porto Alegre**, v. 33, p. 78, 2013. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/85919>. Acesso em 08 ago 2015.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. 3. ed. Oxford University Press: Clarendon Press, [1999], 543 p.
- HANOVER, L. M.; WHITE, J. S. Manufacturing, composition, and applications of fructose. **Am J Clin Nutr**, v. 58, n. 5, p. 724s-32s, 1993.
- HARDY, S. L.; BRENNAND, C. P.; WYSE, B. W. Taste thresholds of individuals with diabetes mellitus and of control subjects. **J Am Diet Assoc**, v.79, n.3, p. 286-9, 1981.
- HAVEL, P. J. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. **Nutr Rev**, v. 63, n. 5, p. 133-57, 2005.
- HEACOCK, P. M.; HERTZLER, S. R.; WOLF, B. W. Fructose prefeeding reduces the glycemic response to a high-glycemic index, starchy food in humans. **J Nutr**, v. 132, n. 9, p. 2601-4, 2002.
- HEDIGER, M. A.; RHOADS, D. B. Molecular physiology of sodiumglucose cotransporters. **Physiol Rev**, v. 74, p. 993-1026, 1994.
- HELGESON V. S., *et al*. Diet of adolescents with and without diabetes: Trading candy for potato chips? **Diabetes Care**, v. 29, n. 5, p. 982-7, 2006.
- HOMMA, T. K. *et al*. Dyslipidemia in young patients with type 1 diabetes mellitus. **Arch Endocrinol Metab**. v. 59, n. 30, p. 215-9, 2015.
- HORN, S. **Insulin and glucagon.** MedBio.info. 2011. Disponível em: < http://www.medbio.info/>. Acesso em 10 fev 2015.
- HUANG, D. *et al*. Fructose impairs glucose-induced hepatic triglyceride synthesis. **Lipids Health Dis,** v. 10, p. 20, 2011.
- HWANG, J. H. *et al*. Impaired net hepatic glycogen synthesis in insulin-dependent diabetic subjects during mixed meal ingestion. A 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy study. **J Clin Invest**, v. 95, n. 2, p. 783-7, 1995.
- KIM, H. *et al*. Association of hyperglycemia and markers of hepatic dysfunction with dextrose infusion rates in Korean patients receiving total parenteral nutrition. **Am J Health Syst Pharm**, v. 60, n. 17, p. 1760-6, 2003.
- IDF. International Diabetes Federation. **IDF Diabetes Atlas**, 6th edn. Brussels, Belgium. 2013. Disponível em: <https://www.idf.org/sites/default/files/EN_6E_Atlas_Full_0.pdf>. Acesso em 30 dez 2013.
- ISSA, C. M.; AZAR, S. T. Possible role of GLP-1 and its agonists in the treatment of type 1 diabetes mellitus. **Curr Diab Rep**, v. 12, n. 5, p. 560-7, 2012.
- JENKINS, D. J. *et al*. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. **Am J Clin Nutr**, v. 34, n. 3, p. 362-6, 1981.
- JOHNSON, R. J.; SANCHEZ-LOZADA, L. G.; NAKAGAWA, T. The effect of fructose on renal biology and disease. **J Am Soc Nephrol**, v. 21, n. 12, p. 2036-9, 2010.
- KARVONEN, M.; VIIK-KAJANDER, M.; MOLTCHANOVA, E.; LIBMAN, I.; LAPORTE, R.; TUOMILEHTO, J. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide.

Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. **Diabetes Care**, v. 23, n. 10, p. 1516-26, 2000.

- KHOBRAGADE R.S.; WAKODE, S. L.; KALE, A. H. Physiological taste threshold in type 1 diabetes mellitus. **Indian J Physiol Pharmacol**, v. 56, n. 1, p. 42-7, 2012.
- KINNEAR, T. C.; TAYLOR, J. R. **Marketing research: an applied approach**. 5. ed. New York: McGraw-Hill, [1996], 888 p.
- KNIP, M.; AKERBLOM, H. K. Environmental factors in the pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v. 107, p. S93-100, 1999.
- KYRIAZIS, G. A.; SOUNDARAPANDIAN, M. M.; TYRBERG, B. Sweet taste receptor signaling in beta cells mediates fructose-induced potentiation of glucose-stimulated insulin secretion. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 109, n. 8, p. E524-32, 2012.
- LAMB, M. M. *et al*. Sugar intake is associated with progression from islet autoimmunity to type 1 diabetes: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young. **Diabetologia**, v. 58, n. 9, p. 2027-34, 2015.
- LE FLOCH, J. P. *et al*. Taste impairment and related factors in type I diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 12, n. 3, p. 173-8, 1989.
- LEE, R. *et al*. Evaluating oxidative stress in human cardiovascular disease: methodological aspects and considerations**. Curr Med Chem**, v. 19, n. 16, p. 2504-20, 2012.
- LEMPAINEN, J. *et al*. Associations of polymorphisms in non-HLA loci with autoantibodies at the diagnosis of type 1 diabetes: INS and IKZF4 associate with insulin autoantibodies. **Pediatr Diabetes**, v. 14, n. 7, p. 490-6, 2013.
- LEVEY, A. S. *et al*. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. **Ann Intern Med**, v. 130, n. 6, p. 461-70, 1999.
- LIM, J. S. *et al*. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 7, n. 5, p. 251-64, 2010.
- LIPSKY, L. M. *et al*. Associations of food preferences and household food availability with dietary intake and quality in youth with type 1 diabetes. **Appetite**, v. 59, n. 2, p. 218-23, 2012.
- LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F.; MARTORELL, R. **Anthropometric standarization reference manual**. Champaign: Human Kinetics Books, [1988], 177 p.
- LOPES SOUTO, D.; LOPES ROSADO, E. Use of carb counting in the dietary treatment of diabetes mellitus. **Nutr Hosp**, v. 25, n. 1, p. 18-25, 2010.
- LUKASKI, H. C. *et al*. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. **Am J Clin Nutr**, v. 41, n. 4, p. 810-7, 1985.
- LWANGA, S. K.; LEMESHOW, S. **Sample size determination in health studies**: a practical manual/SK Lwanga and S. Lemeshow. Geneva: World Health Organization, [1991], 80 p.
- MACDONALD, I.; KEYSER, A.; PACY, D. Some effects, in man, of varying the load of glucose, sucrose, fructose, or sorbitol on various metabolites in blood. **Am J Clin Nutr**, v. 31, n. 8, p. 1305-11, 1978.

- MACHADO, U. F. Transportadores de glicose. **Arq Brasl Endocrinol Metabol**, v. 42, n. 6, p. 413-21, 1998.
- MAFFEIS C.; PINELLI L. Teaching children with diabetes about adequate dietary choices. **Brit J Nutr**, v. 99, p. S33-9, 2008.
- MARITIM, A. C.; SANDERS, R. A.; WATKINS, J. B.. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. **J Biochem Mol Toxicol**, v. 17, n. 1, p. 24-38, 2003.
- MARUICHI, M. D. *et al*. Características de crianças e adolescentes portadores de diabetes mellitus tipo 1 ao diagnóstico. Comparação entre dois períodos com dez anos de diferença em serviço universitário. **Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo**, v. 57, n. 2, p. 55-8, 2012.
- MATEOS, R. *et al*. Determination of malondialdehyde (MDA) by high-performance liquid chromatography in serum and liver as a biomarker for oxidative stress. Application to a rat model for hypercholesterolemia and evaluation of the effect of diets rich in phenolic antioxidants from fruits. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, v. 827, n. 1, p. 76-82, 2005.
- MAYES, P. A. Intermediary metabolism of fructose. **Am J Clin Nutr**, v. 58, n. 5, p. 754S-65S, 1993.
- MCKINNON, E. *et al*. Association of MHC SNP genotype with susceptibility to type 1 diabetes: a modified survival approach. **Diabetes Obes Metab**, v. 11, p. 92-100, 2009.
- MILLER, M. *et al*. Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 123, n. 20, p. 2292-333, 2011.
- MONNIER, L.; COLETTE, C.; OWENS, D. R. Glycemic variability: the third component of the dysglycemia in diabetes. Is it important? How to measure it? **J Diabetes Sci Technol**, v. 2, n. 6, p. 1094-100, 2008.
- MOORE, M. C. Acute fructose administration decreases the glycemic response to an oral glucose tolerance test in normal adults. **J Clin Endocrinol Metabol**, v. 85, n. 12, p. 4515-19, 2000.
- MORAHAN, G. Insights into type 1 diabetes provided by genetic analyses. **Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes**, v. 19, n. 4, p. 263-70, 2012.
- MURRAY, R. K. *et al*. Bioquímica Ilustrada de Harper (LANGE). 29. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Editora, [2013], 826 p.
- MUTLU, A. *et al*. Vitamin D deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes. **J Clin Res Pediatr Endocrinol**, v. 3, n. 4, p. 179-83, 2011.
- MYCHALECKYJ, J. C. *et al*. HLA genotyping in the international type 1 diabetes genetics consortium. **Clin Trials**, v. 7, n. 1, p. S75-87, 2010.
- NANSEL, T. R.; HAYNIE, D. L.; LIPSKY, L. M.; LAFFEL, L. M.; MEHTA, S. N. Multiple indicators of poor diet quality in children and adolescents with type 1 diabetes are associated with higher body mass index percentile but not glycemic control. **J Acad Nutr Diet**, v. 112, n. 11, p. 1728-35, 2012.
- NAKAGAWA, T. *et al*. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 290, n. 3, p. F625-31, 2006.

- NGUYEN, C. *et al*. Definition of high-risk type 1 diabetes HLA-DR and HLA-DQ types using only three single nucleotide polymorphisms. **Diabetes**, v. 62, n. 6, p. 2135-40, 2013.
- NIETO, F. J. *et al*. Uric acid and serum antioxidant capacity: a reaction to atherosclerosis? **Atherosclerosis**, v. 148, n. 1, p. 131-9, 2000.
- OUYANG, X. *et al*. Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease. **J Hepatol**, v. 48, n. 6, p. 993-9, 2008.
- PADOVA, J. *et al*. The effect of glucose loads on renal uric acid excretion in diabetic patients. **Metabolism**, v. 13, p. 507-12, 1964.
- PALMER, J. P. *et al*. C-peptide is the appropriate outcome measure for type 1 diabetes clinical trials to preserve beta-cell function: report of an ADA workshop, 21-22 October 2001. **Diabetes**, v. 53, n. 1, p. 250-64, 2004.
- PAQUOT, N. *et al*. Effects of ingested fructose and infused glucagon on endogenous glucose production in obese NIDDM patients, obese non-diabetic subjects, and healthy subjects. **Diabetologia**, v. 39, n. 5, p. 580-6, 1996.
- PARK, Y. Functional evaluation of the type 1 diabetes (T1D) susceptibility candidate genes. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 77, p. S110-5, 2007.
- PASQUALI, R. *et al*. Determinants of sex hormone-binding globulin blood concentrations in premenopausal and postmenopausal women with different estrogen status. Virgilio-Menopause-Health Group. **Metabolism**, v. 46, n. 1, p. 5-9, 1997.
- PATTI, M. E.; KAHN, C. R. The insulin receptor--a critical link in glucose homeostasis and insulin action. **J Basic Clin Physiol Pharmacol**, v. 9, n. 2-4, p. 89-109, 1998.
- PHILIPPI, S. T. **Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional**. 4 ed. São Paulo: Manole [2013], 164 p.
- PI-SUNYER, F. X. Glycemic index and disease. **Am J Clin Nutr**, v. 76, n. 1, p. 290S-8S, 2002.
- PRATI, D. *et al*. Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels. **Ann Intern Med**, v. 137, n. 1, p. 1-10, 2002.
- REGNELL, E. S.; LERNMARK, A. The environment and the origins of islet autoimmunity and Type 1 diabetes. **Diabet Med**, v. 30, n. 2, p. 155-60, 2013.
- RESNICK, H. E. *et al*. Achievement of American Diabetes Association Clinical Practice Recommendations among U.S. adults with diabetes, 1999–2002: The National Health and Nutrition Examination Survey. **Diabetes Care**, v. 29, n. 3, p. 531-7, 2006.
- RIBEIRO, H. Q. T. *et al*. Adaptações agudas promovidas por exercícios no aumento da expressão gênica, conteúdo e translocação da proteína GLUT-4 no músculo esquelético e melhora na responsividade a insulina. **Rev Bras Fisiol Exerc**, v. 102, p. 106-10, 2011.
- RIBY, J. E.; FUJISAWA, T.; KRETCHMER, N. Fructose absorption. **Am J Clin Nutr**, v. 58, n. 5, p. 748S-53S, 1993.
- RIGALLEAU, V. *et al*. Estimation of glomerular filtration rate in diabetic subjects: Cockcroft formula or modification of diet in renal disease study equation? **Diabetes Care**, v. 28, n. 4, p. 838-43, 2005.
- ROSENFELD, L. Insulin: discovery and controversy. **Clin Chem**, v. 48, n. 12, p. 2270-88, 2002.

- ROSMARIN, D. K.; WARDLAW, G. M.; MIRTALLO, J. Hyperglycemia associated with high, continuous infusion rates of total parenteral nutrition dextrose. **Nutr Clin Pract**, v. 11, n. 4, p. 151-6, 1996.
- ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. **Nature**, v. 362, n. 6423, p. 801-9, 1993.
- ROY, A.; ROY, M.; GOLDMAN, D. Childhood trauma and depressive symptoms in type 1 diabetes. **J Clin Psychiatry**, v. 72, n. 8, p. 1049-53, 2011.
- RUDBERG, S. *et al*. Reduction of protein intake decreases glomerular filtration rate in young Type 1 (insulin-dependent) diabetic patients mainly in hyperfiltering patients. **Diabetologia**, v. 31, n. 12, p. 878-83, 1988.
- SAMANTA, A.; BURDEN, A. C.; JONES, G. R. Plasma glucose responses to glucose, sucrose, and honey in patients with diabetes mellitus: an analysis of glycemic and peak incremental indices. **Diabet Med**, v. 2, p. 371-3, 1985.
- SBD. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Manual Oficial de Contagem de Carboidratos para Profissionais da Saúde**. Rio de Janeiro: Dois C, [2009], 65 p.
- _____. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2014-2015**. São Paulo: AC Farmacêutica, [2015], 374 p.
- SACKS, D. B. *et al*. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. **Clin Chem**, v. 57, n. 6, p. e1-e47, 2011a.
- SACKS, D. B. *et al*. Position statement executive summary: guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 34, n. 6, p. 1419-23, 2011b.
- SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, v. 414, n. 6865, p. 799-806, 2001.
- SARNBLAD, S.; EKELUND, U.; AMAN, J. Dietary fat intake predicts 1-year change in body fat in adolescent girls with type 1 diabetes. **Diabetes Care**, v. 29, n. 6, p. 1227-30, 2006.
- SAUTIN, Y. Y. *et al*. Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 293, n. 2, p. C584-96, 2007.
- SCHEIG, R. Evaluation of tests used to screen patients with liver disorders. **Prim Care**, v. 23, n. 3, p. 551-60, 1996.
- SCHMID, H. New options in insulin therapy. **J Pediatr**, v. 83, n. 8, p. 146-54, 2007.
- SCHULZ, K. F. *et al*. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. BMC Med, v. 8, n. 1, p. 18, 2010.
- SCOTT, F. W. *et al*. Oral exposure to diabetes-promoting food or immunomodulators in neonates alters gut cytokines and diabetes. **Diabetes**, v. 51, n. 1, p. 73-8, 2002.
- SEGAL, M. S.; GOLLUB, E.; JOHNSON, R. J. Is the fructose index more relevant with regards to cardiovascular disease than the glycemic index? **Eur J Nutr**, v. 46, n. 7, p. 406-17, 2007.

- SEINO, Y. *et al*. Fructose induces glucose-dependent insulinotropic polypeptide, glucagon-like peptide-1 and insulin secretion: role of adenosine triphosphate-sensitive K(+) channels. **J Diabetes Investig**, v. 6, n. 5, p. 522-6, 2015.
- SHIBAO, J.; BASTOS, D. H. M. Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicações para a saúde. **Rev Nutr**, v. 24, p. 895-904, 2011.
- SHIN, A. S.; CAMILLERI, M. Diagnostic assessment of diabetic gastroparesis. **Diabetes**, v. 62, n. 8, p. 2667-73, 2013.
- SIEVENPIPER, J. L. *et al*. 'Catalytic' doses of fructose may benefit glycaemic control without harming cardiometabolic risk factors: a small meta-analysis of randomised controlled feeding trials. **Br J Nutr**, v. 108, n. 3, p. 418-23, 2012.
- SIEVENPIPER, J. L. *et al*. Heterogeneous effects of fructose on blood lipids in individuals with type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of experimental trials in humans. **Diabetes Care**., v. 32, n. 10, p. 1930-7, 2009.
- SINAGRA, D. *et al*. Plasma levels of triglycerides, cholesterol, non-esterified fatty acids and uric acid, during oral glucose load, in subjects with type II diabetes and diminished glucose tolerance. **Boll Soc Ital Biol Sper**, v. 58, n. 15, p. 964-70, 1982.
- SINGH, R. *et al*. Advanced glycation end-products: a review. **Diabetologia**, v. 44, n. 2, p. 129-46, 2001.
- SMITH JR, L. H. *et al*. A comparison of the metabolism of fructose and glucose in hepatic disease and diabetes mellitus. **J Clin Invest**, v. 32, n. 4, p. 273, 1953.
- SOLTESZ, G. *et al*. Rising incidence of type 1 diabetes in Hungarian children (1978-1987). Hungarian Childhood Diabetes Epidemiology Group. **Diabet Med**, v. 7, n. 2, p. 111-4, 1990.
- SOSENKO, J. M. *et al*. Trends of earlier and later responses of C-peptide to oral glucose challenges with progression to type 1 diabetes in diabetes prevention trial-type 1 participants. **Diabetes Care**, v. 33, n. 3, p. 620-5, 2010.
- SOUTO, D. L.; ROSADO, E. L. **Contagem de Carboidratos no Diabetes Melito**: Abordagem Teórica e Prática. Rio de Janeiro: Rúbio, [2009], 166 p.
- SOUTO, D.L.; ZAJDENVERG, L.; RODACKI, M.; ROSADO, E. L. Does sucrose intake affect antropometric variables, glycemia, lipemia and C-reactive protein in subjects with type 1 diabetes?: a controlled-trial. **Diabetol Metab Syndr**, v. 5, n. 1, p. 67, 2013.
- SOUTO, D.L.; ZAJDENVERG, L.; RODACKI, M.; ROSADO, E. L. Impact of advanced and basic carbohydrate counting methods on metabolic control in patients with type 1 diabetes. **Nutrition**, v. 30, n. 3, p. 286-90, 2014.
- SOUZA, R. F. D. O que é um estudo clínico randomizado? **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 42, n. 1, p. 3-8, 2009.
- STIRPE, F. *et al*. Fructose-induced hyperuricaemia. **Lancet**, v. 2, n. 7686, p. 1310-1, 1970.
- STORLIEN, L. H., *et al*. Diet composition and insulin action in animal models. **Brit J Nutr**, v. 83, p. S85-90, 2000.
- STUDER, R. K.; CRAVEN, P. A.; DERUBERTIS, F. R. Role for protein kinase C in the mediation of increased fibronectin accumulation by mesangial cells grown in high-glucose medium. **Diabetes**, v. 42, p. 118-26, 1993.

- SWANSON, J. E. *et al*. Metabolic effects of dietary fructose in healthy subjects. **Am J Clin Nutr**, v. 55, n. 4, p. 851-6, 1992.
- Taylor R. Interpretation of the correlation coefficient: a basic review journal of diagnostic medical. **Sonography**, v. 6, p. 35-9, 1990.
- TASKINEN, M. R. Diabetic dyslipidaemia: from basic research to clinical practice. **Diabetologia**, v. 46, n. 6, p. 733-49, 2003.
- THORENS, B.; CHARRON, M. J.; LODISH, H. F. Molecular physiology of glucose transporters. **Diabetes Care**, v. 13, p. 209-18, 1990.
- THORENS, B.; MUECKLER, M. Glucose transporters in the 21st Century. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 298, n. 2, p. E141-5, 2010.
- TRUMBO, P. *et al*. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. **J Am Diet Assoc**, v. 102, n. 11, p. 1621-30, 2002.
- UKPDS. UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY GROUP, *et al*. UK prospective diabetes study (UKPDS). **Diabetologia**, v. 34, n. 12, p. 877-90, 1991.
- USDA. United States Department of Agriculture. **Nutrition and Your Health**: Dietary Guidelines for Americans. Home and Garden Bulletin. Washington, DC: Government Printing Office, 2000.
- UNICAMP. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. **TACO: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4 ed. Campinas: NEPA, [2004], 161 p.
- VASCONCELOS, S. M. L. *et al*. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, p. 1323-38, 2007.
- VEGA-LOPEZ, S. *et al*. Interindividual variability and intra-individual reproducibility of glycemic index values for commercial white bread. **Diabetes Care**, v. 30, n. 6, p. 1412-7, 2007.
- VIEIRA, A. C. P.; CORNÉLIO, A. R. Produtos light e diet: o direito de informação ao consumidor. **Revista Juridica Eletrônica**, n. 45, 2007. Disponível em: < http://www.ambito-juridico.com.br/site/index.php?n_link=revista_artigos_leitura&artigo_id=2212&revista_caderno=10>. Acesso em 14 jul 2015.
- VOET, D.; VOET, J. G. **Bioquímica.** 4 ed. São Paulo: Artmed, [2013], 1504 p.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Physical status, the use and interpretation of anthropometry**: report of a WHO expert committee. Geneva: World Health Organization, 1995.
- _____. **Waist Circumference and waist-hip ratio**: report of a WHO Expert Consultation. Geneva: World Health Organixation, 2008.
- WALKER, H. K.; HALL, W. D.; HURST, J. W. **Clin Methods**. 3 ed. Boston: Butterworths; 1990. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21250045>. Acesso em: 20 jul 2015

- WANG, L.; LOVEJOY, N. F.; FAUSTMAN, D. L. Persistence of prolonged C-peptide production in type 1 diabetes as measured with an ultrasensitive C-peptide assay. **Diabetes Care,** v. 35, n. 3, p. 465-70, 2012.
- WARD, W. K.; CASTLE, J. R.; EL YOUSSEF, J. Safe glycemic management during closed-loop treatment of type 1 diabetes: the role of glucagon, use of multiple sensors, and compensation for stress hyperglycemia. **J Diabetes Sci Technol**, v. 5, n. 6, p. 1373-80, 2011.
- WARING, W. S. *et al*. Uric acid restores endothelial function in patients with type 1 diabetes and regular smokers. **Diabetes**, v. 55, n. 11, p. 3127-32, 2006.
- WARING, W. S. *et al*. Lowering serum urate does not improve endothelial function in patients with type 2 diabetes. **Diabetologia**, v. 50, n. 12, p. 2572-9, 2007.
- WESTMAN, E. C. Is dietary carbohydrate essential for human nutrition? **Am J Clin Nutr**, v. 75, n. 5, p. 951-3, 2002.
- WOLEVER, T.; MILLER, J. B. Sugars and blood glucose control. **Am J Clin Nutr**, v. 62, n. 1, p. 212S-21S, 1995.
- WOLEVER, T. *et al*. Low glycaemic index diet and disposition index in type 2 diabetes (the Canadian trial of carbohydrates in diabetes): a randomised controlled trial. **Diabetologia**, v. 51, n. 9, p. 1607-15, 2008.
- WOLFSDORF, J.; GLASER, N.; SPERLING, M. A. American Diabetes Association. Diabetic ketoacidosis in infants, children, and adolescents: A consensus statement from the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, v. 29, p. 1150-9, 2006.
- WU, D. *et al*. Correlation between blood glucose fluctuations and activation of oxidative stress in type 1 diabetic children during the acute metabolic disturbance period. **Chin Med J (Engl)**, v. 126, n. 21, p. 4019-22, 2013.
- YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiol Rev**, v. 74, p. 139-62, 1994.
- ZUNG, A. *et al*. Increase in the incidence of type 1 diabetes in Israeli children following the Second Lebanon War. **Pediatr Diabetes**, v. 13, n. 4, p. 326-33, 2012.

13. ANEXOS

A. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Clementino Fraga Filho

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
Faculdade de Medicina
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

CEP - MEMO – n.º 1107/11 Rio de Janeiro, 30 de dezembro de 2011.

Do: Coordenador do CEP

A (o): Sr. (a) Pesquisador (a): Débora Lopes Souto

Assunto: Parecer sobre projeto de pesquisa.

Sr. (a) Pesquisador (a),

Informo a V. S.a. que o CEP constituído nos Termos da Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre toda documentação entregue em formato digital incluindo seu respectivo protocolo de pesquisa, conforme abaixo discriminado:

Protocolo de Pesquisa: 151/11 - CEP

Título: "Influência da ingestão de frutose na glicemia e do receptor gustativo TAS1R2 na glicemia, trigliceridemia, metabolismo energético, oxidação dos substratos, uremia, estresse oxidativo, sensações relacionados à ingestão alimentar e palatabilidade de indivíduos com diabetes tipo 1".

Pesquisador (a) responsável: Débora Lopes Souto

Data de apreciação do parecer: 15/12/2011

Parecer: "APROVADO"

Informo ainda, que V. Sa. deverá apresentar relatório semestral, previsto para 15/06/2012, anual e/ou relatório final para este Comitê acompanhar o desenvolvimento do projeto. (item VII. 13.d., da Resolução n. º 196/96 – CNS/MS).

Atenciosamente,

Prof. Carlos Alberto Guimarães
Coordenador do CEP

B. Registro no registrado no ClinicalTrial.gov

ClinicalTrials.gov PRS
Protocol Registration and Results System

ClinicalTrials.gov Protocol and Results Registration System (PRS) Receipt
Release Date: 05/12/2015

Fructose and Glucose and TAS1R2 in Type 1 Diabetes

This study is ongoing, but not recruiting participants.

Sponsor:	Universidade Federal do Rio de Janeiro
Collaborators:	Universidade Federal do Rio de Janeiro Rio de Janeiro State Research Supporting Foundation (FAPERJ)
Information provided by (Responsible Party):	Débora Lopes Souto, Universidade Federal do Rio de Janeiro
ClinicalTrials.gov Identifier:	NCT01713023

Purpose

- BACKGROUND: Individuals with diabetes report innate preference for sweet foods, possibly due to genetic variants. In addition, studies have shown that ingestion of fructose promotes lower postprandial blood glucose, compared to glucose. However, excessive intake may increase triglycerides, uric acid and oxidative stress, due to oxidative priority.
- AIMS: To investigate the influence of fructose and glucose and taste receptor, type 1, member 2 (TAS1R2) in glucose, triglycerides, uremia, oxidative stress, feelings related to food intake and palatability of individuals with type 1 diabetes.
- METHODS: The trial is a single-blind, two-way crossover (1-week washout) study in 30 subjects with type 1 diabetes. Blood samples were collected before and 2-hours after the participants receive 75g of fructose or 75g of glucose dissolved in 200 ml water. Capillary blood glucose were assessed at 30, 90, 120, and 180 minutes to determine glucose, and visual analogue scales for measurement of appetite sensation were assessed at 70, 120, and 190 minutes.
- PURPOSE: The research proposal adds knowledge about the TAS1R2 (Ile191Val) polymorphism and around the most suitable monosaccharide for individuals with diabetes type 1.

ClinicalTrials.gov
A service of the U.S. National Institutes of Health

Fructose and Glucose and TAS1R2 in Type 1 Diabetes

This study is currently recruiting participants.

Verified October 2013 by Federal University of Rio de Janeiro

Sponsor:
Federal University of Rio de Janeiro

Collaborator:
Rio de Janeiro State Research Supporting Foundation (FAPERJ)

Information provided by (Responsible Party):
Débora Lopes Souto, Federal University of Rio de Janeiro

ClinicalTrials.gov Identifier:
NCT01713023

First received: October 19, 2012
Last updated: October 26, 2013
Last verified: October 2013
History of Changes

C. Prêmio Jovem Cientista do Nosso Estado

FAPERJ

GOVERNO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
SECRETARIA DE ESTADO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
FAPERJ - Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

FAPERJ
Processo Nº E-26 ____/____
Data: ___/___/___ Fls. _____
Rubrica: _____

TERMO DE OUTORGA E ACEITAÇÃO DE BOLSA
PROGRAMA JOVEM CIENTISTA DO NOSSO ESTADO

Rio de Janeiro, 05/09/2012,

Nº DO PROCESSO E-*26/103.026/2012 - BOLSA* **Nº DE MATRÍCULA** 2004.3343.2

TÍTULO Influência da ingestão de frutose e glicose na glicemia, trigliceridemia, metabolismo energético, uremia, estresse oxidativo e sensações relacionadas à ingestão alimentar , e do receptor gustativo TAS1R2 na palatabilidade de indivíduos com diabetes tipo 1

BOLSA DE **Jovem Cientista do Nosso Estado**

OUTORGANTE Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

OUTORGADO Eliane Lopes Rosado

ENDEREÇO Av. Brigadeiro Trompowski, s/n - CCS - bloco J - 2o andar
Ilha do Fundão Rio de Janeiro
RJ 21941-590 **TEL.** 2562-6601

E-MAIL elianerosado@nutricao.ufrj.br

INSTITUIÇÃO UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro
UNIDADE Instituto de Nutrição Josué de Castro
DEPARTAMENTO Nutrição e Dietética

VALOR INICIAL De acordo com tabela aprovada

ORIENTADOR/COORDENADOR OU REPRESENTANTE OFICIAL DA INSTITUIÇÃO
Eliane Lopes Rosado

TELEFONE 2562-6601

INÍCIO DA BOLSA: 01/10/2012 **TÉRMINO:** 30/09/2015

Duração: 36 meses.

RELATÓRIO(S) CIENTÍFICO(S) : a ser apresentado no prazo de 60(sessenta) dias após a data de pagamento da última parcela da bolsa.

PRESTAÇÃO DE CONTAS : a ser apresentado no prazo de 60(sessenta) dias após a data de pagamento da última parcela da bolsa.

Avenida Erasmo Braga, 118 – 6º. Andar – Centro – Rio de Janeiro, CEP 20020-000
Telefone para contato: 2333-2000

D. Termo de consentimento livre e esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E DIETÉTICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Versão I, de 10 de novembro de 2011. Resolução nº. 196, 10 de outubro de 1996.

Identificação do Projeto:

Título: Influência da ingestão de frutose e glicose na glicemia e do receptor gustativo TAS1R2 na glicemia, trigliceridemia, metabolismo energético, oxidação dos substratos, uremia, estresse oxidativo, sensações relacionadas à ingestão alimentar e palatabilidade de indivíduos com diabetes tipo 1

Pesquisadores: Débora Lopes Souto, Érika dos Santos Lima e Eliane Lopes Rosado

O(a) Sr(a). está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa de responsabilidade das pesquisadoras Débora Lopes Souto, Érika dos Santos Lima e Eliane Lopes Rosado. O estudo tem como objetivo avaliar a influência do consumo de glicose (açúcar da cana) e frutose (açúcar da fruta) e do gene responsável pela percepção (sensação, identificação) do sabor doce (*taste receptor, type 1, member 2* – TAS1R2) por indivíduos com diabetes. Os resultados fornecerão conhecimentos para o tratamento da doença e poderá tornar mais flexível e variada a dieta.

Caso o(a) Sr(a). esteja em posse deste termo é porque se enquadra nos critérios para participação na pesquisa. Assim, após compreensão do mesmo, o (a) Sr(a) e a pesquisadora responsável deverão rubricar todas as folhas, assinando na última página.

Será marcado o dia em que o(a) Sr(a). deverá comparecer ao Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), localizado na Rua Rodolpho Paulo Rocco, nº 255, entre às 6:30 e 8h da manhã para coleta de sangue.

Neste dia, serão realizadas duas coletas de sangue, uma antes e outra após a ingestão de uma bebida (composta de água mineral potável e frutose ou glicose). O(a) Sr(a). permanecerá em local agradável com disponibilidade de revistas durante três (3) horas. Ao final, lhe ofereceremos um lanche.

O(A) Sr(a). não sofrerá riscos com a participação no estudo. Não permitiremos que sua glicemia ultrapasse os valores recomendados. Os desconfortos são aqueles associados com a coleta de sangue (em raras ocasiões a coleta pode provocar hematoma ou roxidão no local). O sangue será coletado na sua veia do antebraço, por pessoal devidamente treinado com total higienização e material descartável.

_____ _____

Débora Lopes Souto (pesquisadora responsável) Rubrica do voluntário

1

Após uma semana de intervalo, o Sr.(a) deverá voltar ao HUCFF para realizar o mesmo procedimento anteriormente descrito.

Em qualquer etapa do estudo, o(a) Sr(a) terá acesso ao profissional responsável que poderá ser encontrado pelos telefones (21) 2260-4139 e (21) 99142-3642 ou no e-mail: deborasouto@openlink.com.br (Dra. Débora), e pelo telefone (21) 99566-6989 (Dra. Érika) ou no e-mail: erikalima.nutri@gmail.com. Caso tenha alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho – Rua Prof. Rodolfo Paulo Rocco, nº 225 – Cidade Universitária/ Ilha do Fundão – sala 01 D-46, 1° andar, telefone (21) 2562-2480, de segunda a sexta-feira, das 8 às 15 horas, ou por e-mail (CEP@hucff.ufrj.br).

É garantida a liberdade de querer não participar da pesquisa ou retirar o consentimento a qualquer momento, no caso da aceitação, sem qualquer prejuízo. Os resultados serão analisados em conjunto com os resultados dos outros voluntários, não sendo divulgada a identificação de nenhum participante e não sendo divulgado seu nome ou qualquer documento que o associe à pesquisa.

Todas as amostras coletadas serão utilizadas apenas para esta pesquisa. Os resultados serão apresentados em revistas e congressos científicos. Os resultados de seus exames somente serão avaliados pelos pesquisadores deste estudo e pelos profissionais que estão relacionados com o seu atendimento, e não sendo permitido que terceiros vejam seus resultados, garantindo-lhe total proteção.

Os resultados da pesquisa serão fornecidos ao final de sua participação no estudo, após verificarmos sua opção de tomar ou não conhecimento dessas informações, quando o(a) Sr(a). receberá orientações individualizadas. Os pesquisadores também oferecerão ao(a) Sr.(a) acompanhamento durante um ano (12 meses) baseado nas recomendações dietéticas da Sociedade Brasileira e Americana de Diabetes e nos resultados obtidos no estudo. Esta pesquisa não lhe trará nenhuma despesa, ou seja, o(a) Sr(a). não pagará pelos exames e pelas demais avaliações, no entanto também não terá compensações financeiras.

Eu, _____, declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito.

_____ Data: _____ / _____ / 20_____.

Assinatura do voluntário

_____ Data: _____ / _____ / 20_____.

Débora Lopes Souto (pesquisadora responsável)

2

E. Questionário pré-exame

Universidade Federal do Rio de Janeiro – Centro de Ciências da Saúde

Instituto de Nutrição Josué de Castro – Departamento de Nutrição e Dietética

Projeto: Influência da ingestão de frutose e glicose na glicemia e do receptor gustativo TAS1R2 na glicemia, trigliceridemia, metabolismo energético, oxidação dos substratos, uremia, estresse oxidativo, sensações relacionadas à ingestão alimentar e palatabilidade de indivíduos com diabetes tipo 1.

Pesquisadores: Débora Lopes Souto, Érika dos Santos Lima e Eliane Lopes Rosado.

QUESTIONÁRIO PRÉ-EXAME

Ensaio Clínico 1: Data: _____/_____/201___.

Em que horário ingeriu a sua última refeição antes do jejum? _____.

Praticou exercícios físicos ontem? ( ) não ( ) sim → o quê? _____.

Em qual horário?_____.

Ingeriu bebida alcoólica ontem? ( ) não ( ) sim → o quê? _____.

Em qual horário?_____.

Você teve hiperglicemia durante mais de seis horas seguidas ontem? ( ) não ( ) sim

Na última semana, você teve febre ou esteve gripado ou resfriado? ( ) não ( ) sim

Na última semana, você tomou alguma vacina ou injeção? ( ) não ( ) sim

Quando? _____.

Passou por trauma emocional nos últimos dias? (Ex: falecimento, assalto, etc)

( ) não ( ) sim → O quê? _____. Quando? _____.

Esteve em período menstrual nos últimos 7 dias? ( ) não ( ) sim

Sua menstruação está prevista para os próximos 7 dias? ( ) sim ( ) não ( ) não sabe

---

Ensaio Clínico 2: Data: _____/_____/201___.

Em que horário ingeriu a sua última refeição antes do jejum? _____.

Praticou exercícios físicos ontem? ( ) não ( ) sim → o quê? _____.

Em qual horário?_____.

Ingeriu bebida alcoólica ontem? ( ) não ( ) sim → o quê? _____.

Em qual horário?_____.

Você teve hiperglicemia durante mais de seis horas seguidas ontem? ( ) não ( ) sim

Na última semana, você teve febre ou esteve gripado ou resfriado? ( ) não ( ) sim

Na última semana, você tomou alguma vacina ou injeção? ( ) não ( ) sim

Quando? _____.

Passou por trauma emocional nos últimos dias? (Ex: falecimento, assalto, etc)

( ) não ( ) sim → O quê? _____. Quando? _____.

Esteve em período menstrual nos últimos 7 dias? ( ) não ( ) sim

Sua menstruação está prevista para os próximos 7 dias? ( ) sim ( ) não ( ) não sabe

---

F. Frutose (pó branco cristalino – Lowçucar®)

Lowçucar

FICHA TÉCNICA

Adoçante de Mesa Frutose Lowçucar

NOME:

Frutose Lowçucar

CLASSIFICAÇÃO:

Adoçante de mesa em pó.

COMPONENTES:

Frutose

CÓDIGO COMERCIAL:

F0, F3

APRESENTAÇÃO:

Pó Branco Cristalino

PRAZO DE VALIDADE:

01 Ano

MODO DE PREPARO:

Adicionar à bebida e preparações diversas de sua preferência como substituto do açúcar. A Frutose Lowçucar é ideal também, para ser utilizada no preparo de bolos e doces. É o único adoçante que forma calda de caramelo.

PODER EDULCORANTE:

Adoça duas vezes mais que o açúcar de cana

REGISTRO NO MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE):

Dispensado de registro segundo RDC nº278 de setembro de 2005.

EMBALAGEM:

Cartucho (200g), Saco Plástico (500g)

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO:

Deve ser armazenado em local seco e fresco.

INDICAÇÕES:

Para todas as pessoas de qualquer idade, especialmente para aqueles que necessitam de Dietas especiais.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS:

Não contém glúten. Diabéticos: contém 2,5g de frutose por ½ colher de chá.

Informação Nutricional
Porção de 2,5g (½ colher de sopa)

Quantidade por porção		%VD(*)
Valor Calórico	10Kcal=42kJ	0%
Carboidratos	2,5g	1%
Proteína	0g	0%
Gorduras Totais	0g	0%
Gorduras	0g	0%
Gorduras Trans	0g	0%
Fibra Alimentar	0g	0%
Cálcio	13g	2%
Ferro	0g	0%
Sódio	0mg	0%

*%VD - Valores Diários de referência com base em uma dieta de 2000Kcal ou 8400KJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.

LIGHTSWEET
LightSweet - Alimentos da Geração Saúde - Rodovia BR 376 - Lote 300A - Km 113 - Gleba Ribeirão Sarandi - Fone/Fax - +55 (44) 3232-8182
CEP: 86.990-000 - Caixa Postal 41 - Marialva - Paraná - Brasil

G. Glicose (dextrose em pó – Glutol Laborclin®)

FICHA DE INFORMAÇÃO E SEGURANÇA DE PRODUTO QUÍMICO
Produto **GLUTOL LIMAO PO**

1. IDENTIFICAÇÃO DA EMPRESA

Laborclin Produtos para Laboratórios
Rua Cassemiro de Abreu, 521 – Vargem Grande
83.321-210 – Pinhais/PR
Telefone/Fax: 0xx – 41 – 3661-9044 SAC: 0800-410027
e-mail: sac@laborclin.com.br Home page: www.laborclin.com.br

2. IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO

Código LB: **610800/610803/610804/610801/610120/610119/610125/610126**
Produto: **GLUTOL LIMAO PO**
Embalagem: Caixa com envelopes de 50 g (610800), 100 g (610803), 1 unidade de 100 g (610804), 1 unidade de 50 g (610801), caixa de 75 g (610120), 1 unidade de 75 g (610119) , pote com 600 g (610125) ou sache com 600 g (610126).

3. COMPOSIÇÃO E INFORMAÇÃO DE INGREDIENTES

Dextrose para Glucol Pote – 50,0 kg
Premix Limão Sabor G2 – 920 g

Ingredientes perigosos: Nenhum dos componentes da formulação é considerado perigoso, nas quantidades presentes.

4. IDENTIFICAÇÃO DE PERIGOS

Efeitos adversos à saúde: Eventualmente podem ser observadas reações do tipo alérgicas a algum dos componentes individuais da formulação.

5. MEDIDAS DE PRIMEIROS SOCORROS

Pele/mucosas/olhos: Lavar o local com água em abundância e procurar auxílio médico no caso de reações do tipo alérgicas.

6. MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIOS

Em caso de incêndio: Utilizar CO_2, pó químico seco ou água.
Equipamentos de proteção específicos: Não requeridos.

7. MEDIDAS DE CONTROLE EM CASOS DE DERRAMAMENTO E VAZAMENTO

No caso de quebra ou rompimento de embalagem, remover o material e providenciar seu descarte conforme normas internas do laboratório

H. Ficha para registro dietético habitual

Universidade Federal do Rio de Janeiro – Instituto de Nutrição Josué de Castro – Departamento de Nutrição e Dietética

Projeto: Influência da ingestão de frutose e glicose na glicemia e do receptor gustativo TAS1R2 na glicemia, trigliceridemia, metabolismo energético, oxidação dos substratos, uremia, estresse oxidativo, sensações relacionadas à ingestão alimentar e palatabilidade de indivíduos com diabetes tipo 1.

Pesquisadores: Débora Lopes Souto, Érika dos Santos Lima e Eliane Lopes Rosado.

REGISTRO DIETÉTICO

Nome: _____.

Data: ___/___/201__. ( ) segunda ( ) terça ( ) quarta ( ) quinta ( ) sexta ( ) sábado ( ) domingo

	Alimento / Preparação	**Quantidade** (medidas caseiras)
Refeição: _____ **Horário:** ____ h ____ minutos **Glicemia capilar:** ____ mg/dL **Dose de insulina:** ____ unidades		
Refeição: _____ **Horário:** ____ h ____ minutos **Glicemia capilar:** ____ mg/dL **Dose de insulina:** ____ unidades		
Refeição: _____ **Horário:** ____ h ____ minutos **Glicemia capilar:** ____ mg/dL **Dose de insulina:** ____ unidades		
Refeição: _____ **Horário:** ____ h ____ minutos **Glicemia capilar:** ____ mg/dL **Dose de insulina:** ____ unidades		
Refeição: _____ **Horário:** ____ h ____ minutos **Glicemia capilar:** ____ mg/dL **Dose de insulina:** ____ unidades		
Refeição: _____ **Horário:** ____ h ____ minutos **Glicemia capilar:** ____ mg/dL **Dose de insulina:** ____ unidades		

I. Questionário internacional de atividade física

Universidade Federal do Rio de Janeiro – Centro de Ciências da Saúde

Instituto de Nutrição Josué de Castro – Departamento de Nutrição e Dietética

Projeto: Influência da ingestão de frutose e glicose na glicemia e do receptor gustativo TAS1R2 na glicemia, trigliceridemia, metabolismo energético, oxidação dos substratos, uremia, estresse oxidativo, sensações relacionadas à ingestão alimentar e palatabilidade de indivíduos com diabetes tipo 1

Pesquisadores: Débora Lopes Souto, Érika dos Santos Lima e Eliane Lopes Rosado.

QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA

Nome:_____. Data: ___/___/ 201__.

As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na ÚLTIMA semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim.

Para responder as questões lembre que:

- Atividades físicas VIGOROSAS são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal
- Atividades físicas MODERADAS são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza por pelo menos (10) dez minutos contínuos de cada vez.

1 (a): Em quantos dias da última semana você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

Nº de dias _____ por semana ( ) Nenhum

1 (b): Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando por dia?

Horas: _____. Minutos: _____

2 (a): Em quantos dias da última semana, você realizou atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (NÃO INCLUA CAMINHADA)

Nº de dias _____ por semana ( ) Nenhum

2 (b) : Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

Horas: _____ Minutos: _____

3 (a): Em quantos dias da última semana, você realizou atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar MUITO sua respiração ou batimentos do coração.

Nº de dias _____ por semana ( ) Nenhum

3 (b): Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

Horas: _____ Minutos: _____

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, metrô ou carro.

4 (a): Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana?

Horas: _____ Minutos: ____

4 (b): Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana?

Horas: _____ Minutos: ____

J. Escala de palatabilidade

Universidade Federal do Rio de Janeiro – Centro de Ciências da Saúde

Instituto de Nutrição Josué de Castro – Departamento de Nutrição e Dietética

Projeto: Influência da ingestão de frutose e glicose na glicemia e do receptor gustativo TAS1R2 na glicemia, trigliceridemia, metabolismo energético, oxidação dos substratos, uremia, estresse oxidativo, sensações relacionadas à ingestão alimentar e palatabilidade de indivíduos com diabetes tipo 1.

Pesquisadores: Débora Lopes Souto, Érika dos Santos Lima e Eliane Lopes Rosado.

QUESTIONÁRIO DE PALATIBILIDADE

Nome:_____.

Data: ___/___/ 201__. Horário: ___horas e ___minutos.

1. O que você achou da doçura?

_____

Estava extremamente doce — Não estava nada doce.

2. Você gostou do sabor?

_____

Sim, gostei muitíssimo — Não gostei nenhum pouco.

3. Estava bem diluído?

_____

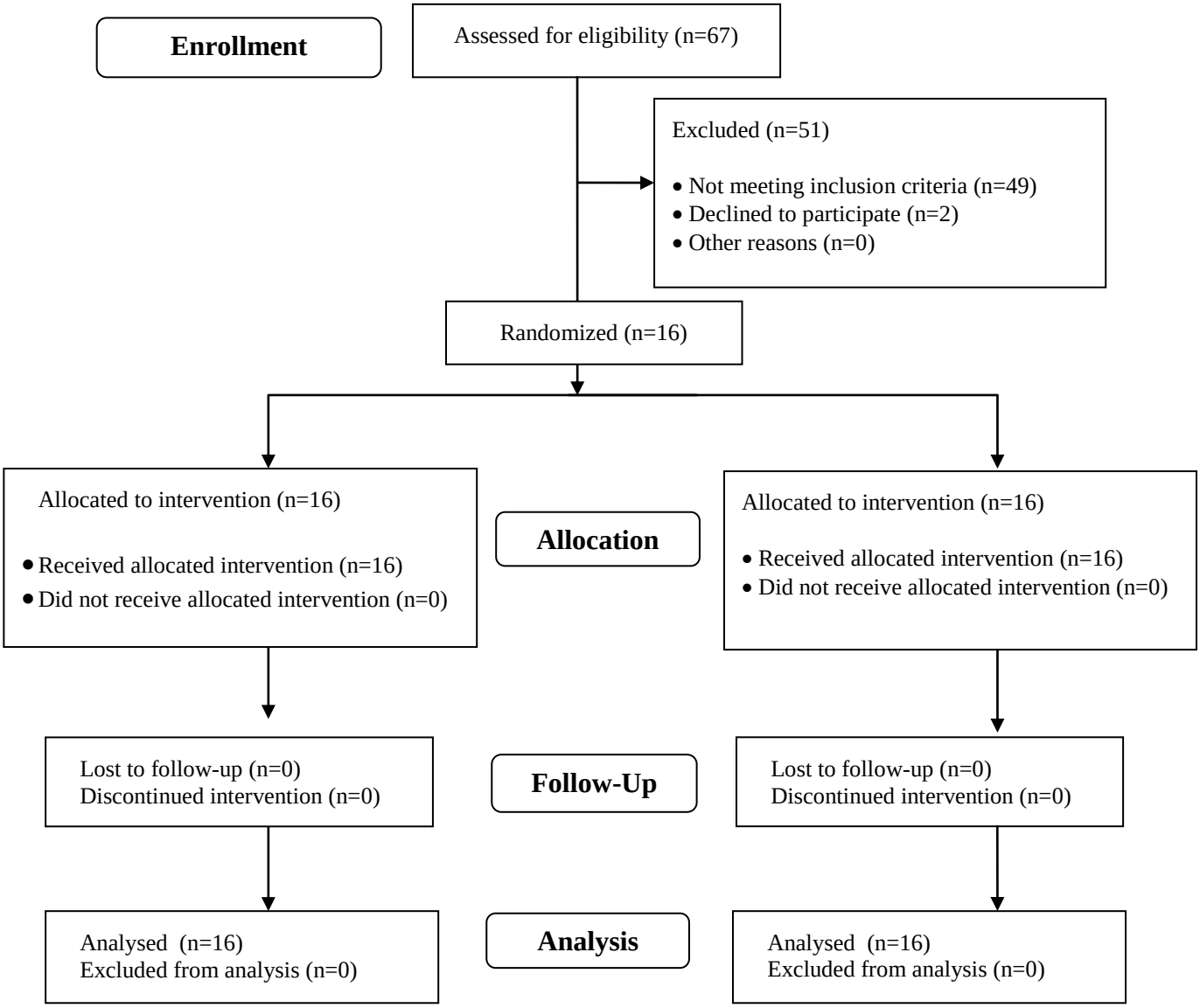
Havia muitos resíduos (Estava muito mal dissolvido) — Não senti nenhum resíduo (Estava perfeitamente homogenia)

4. O sabor residual (sabor percebido imediatamente após essa bebida ser engolida) é...

_____

Muitíssimo intenso (Extremamente forte) — Imperceptível (Desaparece completamente)

K. CONSORT 2010 checklist referente ao manuscrito

Section/Topic	Item No	Reported on page No
Title and abstract	1a	Indicate the study design in the title and the abstract (line 6)
	1b	Structured abstract in lines 3 to 22
Background and objectives	2a	Explain the background and rationale in lines 27-38
	2b	The objectives are described in lines 39-42.
Trial design	3a	In lines 62-65 we have descripted of trial design
	3b	Not applicable
Participants	4a	The eligibility criteria for participants are descripted in lines 48-56
	4b	Locations where the data were collected are described in lines 45-46
Interventions	5	All study was described in lines 62-139
Outcomes	6a	Not applicable
	6b	Not applicable
Sample size	7a	The sample size and selection for convenience (descripted in line 57-58)
	7b	Not applicable
Randomisation:		
Sequence generation	8a	Not applicable
	8b	Not applicable
Allocation	9	Not applicable
Implementation	10	Not applicable
Blinding	11a	The simple-blind was described in line 62
	11b	Not applicable
Statistical methods	12a	Statistical analysis are described in lines 140-150
	12b	Not applicable
Participant flow	13a	Descript in supplementary date (download together with other archives)
	13b	Not applicable
Recruitment	14a	Described in lines 45-47
	14b	Not applicable
Baseline data	15	Table 1
Numbers analysed	16	Not applicable (all volunteers participated)
Outcomes and estimation	17a	Described in each table and in results (152 to 212)
	17b	Table 2, 3, and 4
Ancillary analyses	18	Not applicable
Harms	19	Not applicable
Limitations	20	Limitations are described in lines 294 to 307
Generalisability	21	Not applicable
Interpretation	22	Interpretation are described in lines 296-297 and 315-318
Registration	23	ClinicalTrial.gov NCT 01713023. Described in lines 22 and 59.
Protocol	24	Supplementary date are download together with other archives
Funding	25	Descript in lines 322-333

L. *Flow Diagram* referente ao manuscrito