

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade de Medicina**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas**

**FERNANDA DE MATOS FEIJÓ**

**Efeito da Suplementação com Sacarina e Sacarose no Ganho de Peso e  
Consumo Energético em Ratos Wistar com Dieta não Restrita**

Porto Alegre, 2010

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade de Medicina**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas**

**Efeito da Suplementação com Sacarina e Sacarose no Ganho de Peso e  
Consumo Energético em Ratos Wistar com Dieta não Restrita**

**FERNANDA DE MATOS FEIJÓ**

**Orientador: Prof. Dr. Marcello Casaccia Bertoluci**

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, 2010

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Dr. Marcello Casaccia Bertoluci, pela oportunidade de participar deste curso de Pós-Graduação, pelo incentivo e pela valiosa orientação.

À Professora Dra. Maria Flávia Marques Ribeiro e seus colaboradores pela ajuda e valorosa contribuição neste trabalho.

Às bolsistas Bruna Aparecida Melo Batista e Alice Magagnin Neves pela grande ajuda na execução da pesquisa.

Às amigas Cíntia Reis e Kelly Carraro Foletto pela ajuda na concepção e execução da pesquisa.

Aos funcionários da Unidade de Experimentação Animal (UEA) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

À amiga Francisca Mosele pela contribuição neste trabalho.

À CAPES pelo incentivo à pesquisa.

**Este projeto recebeu financiamento do Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).**

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| LISTA DE LEGENDAS, ABREVIATURAS E SIGLAS.....                     | 07 |
| TABELA DO ARTIGO.....   | 09 |
| LISTA DE FIGURAS.....   | 10 |
| LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO.....                                   | 11 |
| RESUMO.....   | 13 |
| INTRODUÇÃO.....   | 16 |
| REVISÃO DA LITERATURA.....  | 19 |
| 1 Obesidade.....  | 20 |
| 1.1 Definição e Epidemiologia.....                                | 20 |
| 2 Edulcorantes e Adoçantes Dietéticos.....                        | 22 |
| 2.1 Conceitos e Definições.....                                   | 22 |
| 2.2 Histórico.....  | 23 |
| 2.3 Classificação.....  | 24 |
| 2.4 Sacarina, Síntese e Propriedades Gerais.....                  | 25 |
| 3 Edulcorantes e Obesidade.....                                   | 26 |
| 3.1 Edulcorantes, Estimulação da Fase Cefálica e Termogênese..... | 29 |
| 4 Carboidratos e Saciedade.....                                   | 33 |
| 4.1 Sacarose: Composição Química.....                             | 36 |
| 5 Mecanismos de Controle da Fome e Saciedade.....                 | 38 |
| 5.1 Via Hipotalâmica Anorexígena.....                             | 40 |
| 5.2 Via Hipotalâmica Orexígena.....                               | 41 |
| OBJETIVOS.....  | 42 |
| REFERÊNCIAS.....  | 44 |

|                                  |           |
|----------------------------------|-----------|
| <b>ARTIGO.....</b>               | <b>54</b> |
| <b>CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b> | <b>83</b> |

## LISTA DE LEGENDAS, ABREVIATURAS E SIGLAS

**Ad libitum/Ad lib:** À vontade.

**ANOVA:** Análise de variâncias para medidas repetidas.

**ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

**AgRP:** Peptídeo Relacionado ao Agouti.

**ATP:** Trifosfato de Adenosina.

**C1:** Grupo Controle Ração (ração e água *ad libitum* 7 dias na semana).

**C2:** Grupo Controle Iogurte (30ml/dia de iogurte puro além de ração e água *ad libitum*), 5 vezes na semana, demais dias somente água e ração *ad libitum*.

**CART:** Transcrito Regulado por Cocaína e Anfetamina.

**CCK:** Colecistocinina.

**DM II:** Diabetes Mellitus tipo 2.

**GLP-1:** Peptídeo Semelhante ao Glucagon.

**GIP:** Peptídeo Insulinotrópico Dependente de Glicose.

**IDA:** Ingestão Diária Aceitável.

**IBGE:** Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

**MC3:** Receptores de Melanocortina 3.

**MC4:** Receptor de Melanocortina 4.

**NPY:** Neuropeptídeo Y.

**OMS:** Organização Mundial da Saúde.

**OXM:** Oxintomodulina.

**POMC:** Pró-opiomelanocortina.

**PP:** Pâncreas Oolipeptídeo.

**PYY:** Peptídeo YY.

**Sacarina/Saccharin:** Grupo Sacarina (30mL/dia de iogurte com sacarina 0,3% além de ração e água *ad libitum*). Os suplementos foram administrados durante 5 dias por semana sendo que em 1 dia, escolhido aleatoriamente, os animais receberam apenas iogurte puro (30ml/dia) e ração e água *ad libitum*. Demais dias somente água e ração *ad libitum*.

**Sacarose/Sucrose:** Grupo Sacarose (30mL/dia de iogurte com sacarose 20% além de ração e água *ad libitum*). Os suplementos foram administrados durante 5 dias por semana sendo que em 1 dia, escolhido aleatoriamente, os animais receberam apenas iogurte puro (30ml/dia) e ração e água *ad libitum*. Demais dias somente água e ração *ad libitum*.

**SNS:** Sistema Nervoso Simpatico.

**SPSS:** Statistical Package for the Social Sciences.

**WHO:** World Health Organization.

**$\alpha$ -MSH:** Hormônio Estimulador da Melanocortina.



## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1</b> - Estrutura química da sacarina sódica.....  | 25 |
| <b>Figura 2</b> - Rede de interações de um sistema psíquico-fisiológico.....   | 30 |
| <b>Figura 3</b> - Composição química da sacarose.....  | 37 |
| <b>Figura 4</b> - Principais fatores fisiológicos e mecanismos corporais relacionados ao controle da ingestão alimentar e à compensação energética, a curto e longo prazo..... | 39 |

## TABELA DO ARTIGO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Table 1 - Weight Gain and Energy Intake in Experiment 2.....</b> | <b>73</b> |
|---|-----------|

## LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO

- Figure 1 (Experiment 1)** - Outline of the diet protocol of the groups. (\*) The order of presentation of sweetened diet or not will be random each week.....74
- Figure 2 (Experiment 1)** - Cumulative weight gain along 21 weeks. Weeks 6 and 7 represent the washout period. Weeks 13 to 21 were offered only chow and water ad lib. The dark vertical bar represents the end of intervention. The errors bars represent the standard error. ( \* )  $p < 0.05$  between groups C1 vs. Saccharin and ( # )  $p < 0.05$  between groups Saccharin vs. Sucrose.....75
- Figure 3 (Experiment 1)** – Total cumulative caloric intake corrected by weekly rat weight along 21 weeks. Weeks 6 and 7 represent the washout period. Weeks 13 to 21 were offered only chow and water ad lib. The vertical bar corresponds to the end of intervention. Error bars represent standard error. ( \* )  $p < 0.05$  between groups C2 vs. Sucrose, ( # )  $p < 0.05$  between groups Saccharin vs. Sucrose.....76
- Figure 4 (Experiment 1)** – Total cumulative chow intake corrected by the weekly weight along 21 weeks. Weeks 6 and 7 represent the washout period. Weeks 13 to 21 were offered only chow and water ad lib. The vertical bar corresponds to the end of intervention. Error bars represent standard error. (\*)  $p < 0.05$  between groups C2 vs. Sucrose and (#)  $p < 0.05$  between groups Saccharin vs. Sucrose.....77
- Figure 5 (Experiment 2)** - Cumulative weight gain along 12 weeks. Error bars represent standard error. ( \* )  $p < 0.05$  between C1 vs. Saccharin groups and ( # )  $p < 0.05$  between Saccharin vs. Sucrose groups.....78
- Figure 6 (Experiment 2)** - Evolution of weight gain along 12 weeks, analysis of mixed model. ( \* ) Saccharin vs. Sucrose ( $p = 0.035$ ).....79

**Figure 7 (Experiment 2)** - Total cumulative caloric intake corrected by the weekly weight along 12 weeks. The bars of error represent the standard error. ( “ )  $p < 0.05$  between groups C1 vs. C2; ( \* )  $p < 0.05$  between groups C1 vs. Saccharin; ( “ )  $p < 0.05$  between groups C2 vs. Sucrose and ( # )  $p < 0.05$  between groups Saccharin vs. Sucrose.....80

**Figure 8 (Experiment 2)** - Cumulative chow intake corrected by the weekly weight along 12 weeks. The bars of error represent the standard error. ( ‘ )  $p < 0.05$  between groups C1 vs. Sucrose; ( # )  $p < 0.05$  between groups Saccharin vs. Sucrose; ( “ )  $p < 0.05$  between groups C2 vs. Sucrose and ( \* )  $p < 0.05$  between groups C1 vs. Saccharin.....81

**Figure 9 (Experiment 2)** - Total caloric intake corrected by the final weight (A), Caloric chow intake corrected by the final weight (B) in 12 weeks.....82

---

---

***RESUMO***

## RESUMO

**Objetivo:** Tem sido sugerido que o uso de adoçantes dietéticos promove aumento no peso corporal e na adiposidade em ratos, através de alterações na regulação da ingestão alimentar. O objetivo do estudo foi comparar o efeito da sacarina e sacarose na ingestão alimentar e no peso corporal de ratos Wistar.

**Métodos: Experimento 1:** Foi realizado um estudo piloto de 21 semanas, onde nas primeiras 12 semanas foi realizada a intervenção seguida de 09 semanas sem intervenção (fase observacional) para se avaliar a potencial reversibilidade do efeito da intervenção. Foram estudados 16 ratos machos Wistar, com peso inicial médio de 200-300g no início do experimento. Cada animal recebeu ração e água *ad libitum* por todo experimento e suplemento por 12 semanas de acordo com os seguintes grupos: C1 (somente ração, n=4), C2 (30mL/dia de iogurte sem suplemento, n=4), Sacarina (30mL/dia de iogurte com sacarina 0,3%, n=4) e Sacarose (30mL/dia de iogurte com sacarose 20%, n=4). Os suplementos foram administrados durante 5 dias por semana sendo que em 1 dia, escolhido aleatoriamente, os animais receberam iogurte sem suplemento. Foi utilizada ANOVA com teste de Fisher ( $p < 0.05$ ). **Experimento 2:** Foi realizado um experimento controlado de 12 semanas de intervenção com 40 ratos machos, pesando em média 200-300g no início do experimento. Cada animal recebeu ração e água *ad libitum* e suplemento por 12 semanas de acordo com os seguintes grupos: C1 (somente ração, n=10), C2 (30mL/dia de iogurte sem suplemento, n=10), Sacarina (30mL/dia de iogurte com sacarina 0,3%, n=10) e Sacarose (30mL/dia de iogurte com sacarose 20%, n=10). O controle da ingestão da dieta foi realizado diariamente através de pesagem do resto-ingestão, e o peso dos animais foi verificado semanalmente. Utilizou-se ANOVA com o teste de Fisher ( $p < 0.05$ ) e para análise de modelo misto utilizou-se o software SPSS versão 18.0.

**Resultados: Experimento 1:** O ganho de peso cumulativo ao longo de 12 semanas demonstrou que o grupo Sacarina apresentou maior ganho de peso em relação aos grupos Sacarose e C1. Após o fim da intervenção na 12<sup>a</sup> semana houve uma atenuação do ganho de peso em todos os grupos, a significância entre os grupos Sacarina e Sacarose deixou de aparecer após a 17<sup>a</sup> semana. O consumo calórico total corrigido pelo peso semanal ao longo de 21 semanas demonstrou que os grupos Sacarina e C2 apresentaram maior consumo em relação ao grupo Sacarose. O consumo de calorias totais entre os grupos Sacarose e C1 foi similar e não houve diferença no ganho de peso entre os dois grupos. O consumo calórico cumulativo proveniente do consumo de ração corrigido pelo peso semanal ao longo de 21 semanas demonstrou maior consumo entre C1, C2 e Sacarina vs. Sacarose e entre C1 vs. Sacarina. Os grupos Sacarina e C2 não apresentaram diferenças entre eles no ganho de peso e consumo energético. **Experimento 2:** O ganho de peso final-inicial foi significativo entre os grupos Sacarina vs. C1 ( $p = 0.0178$ ) e Sacarina vs. Sacarose ( $p = 0.0010$ ). O ganho de peso cumulativo ao longo de 12 semanas demonstrou que o grupo Sacarina apresentou maior ganho de peso em relação aos grupos Sacarose e C1 a partir da 8<sup>a</sup> semana. A evolução do ganho de peso ao longo de 12 semanas foi significativa entre os grupos Sacarina e Sacarose ( $p = 0.035$ ), comprovando o achado anterior. O consumo cumulativo de calorias totais corrigido pelo peso semanal ao longo de 12 semanas demonstrou ser maior entre os grupos Sacarina e C2 vs. Sacarose e entre os grupos C1 vs. Sacarina e C2. O consumo de calorias totais entre os grupos Sacarose e C1 foi similar e não houve diferença no ganho de peso entre os dois grupos. O consumo calórico cumulativo proveniente do

consumo de ração corrigido pelo peso semanal ao longo de 12 semanas demonstrou maior consumo entre os grupos Sacarina, C1 e C2 vs. Sacarose e entre os grupos C1 vs. Sacarina. Os grupos Sacarina e C2 não apresentaram diferenças entre eles no ganho de peso e consumo energético. O consumo de calorias totais corrigido pelo peso final em 12 semanas demonstrou que o grupo Sacarina apresentou maior consumo de calorias totais em relação aos grupos C1 ( $p=0.0005$ ) e Sacarose ( $p=0.0115$ ). O grupo C2 demonstrou maior consumo de calorias totais em relação aos grupos C1 ( $p=0.0003$ ) e Sacarose ( $p=0.0008$ ). O consumo calórico total cumulativo proveniente do consumo de ração corrigido pelo peso final em 12 semanas demonstrou que o grupo Sacarina apresentou maior consumo de ração em relação aos grupos Sacarose ( $p=0.0001$ ) e C1 ( $p=0.0050$ ), e o grupo Sacarose apresentou maior consumo de ração em relação aos grupos C1 ( $p=0.001$ ) e C2 ( $p=0.001$ ).

**Conclusão:** Os resultados indicam que a suplementação com sacarose promoveu menor ganho de peso, enquanto a suplementação com sacarina apresentou um ganho de peso semelhante ao grupo suplementado com iogurte puro. O menor ganho de peso está associado a um menor consumo de ração, sugerindo maior saciedade no grupo Sacarose. No presente estudo este efeito voltou a se normalizar após 17 semanas sem o uso dos suplementos. Outros estudos são necessários para esclarecer os mecanismos hipotalâmicos envolvidos.

---

## ***INTRODUÇÃO***

---



## INTRODUÇÃO

Nos últimos 30 anos, a incidência de pessoas com sobrepeso e obesidade tem aumentado dramaticamente em todo o mundo, uma das mudanças no comportamento alimentar que está correlacionada com o curso atual da obesidade é a introdução em larga escala de adoçantes não calóricos como a sacarina e de muito baixo valor calórico como o aspartame. Estas substâncias são comumente encontradas em uma variedade de alimento de baixas calorias, alimentos de propósito saudáveis, com um aumento especialmente dramático do seu consumo na forma de refrescos (Swithers, Martin e Davidson, 2010; Swithers, Baker e Davidson, 2009; Mattes e Popkin, 2009; Swithers e Davidson, 2008; Duffy e Sigman-Grant, 2004; The Freedomia Group, 2001; Schiweck, 1999).

Pesquisadores e profissionais da área da saúde durante um longo tempo recomendaram o uso de adoçantes sem calorias ou com redução de calorias como uma maneira de controlar o peso. Acreditava-se que a substituição dos carboidratos da dieta pelo adoçante poderia promover a redução da massa corporal, por induzir a eficiência da saciedade e reduzir o valor energético da dieta. No entanto, estudos têm demonstrado que não são todos os adoçantes que apresentam efeitos equivalentes sobre o apetite, visto que os seus mecanismos de controle dependem da natureza e da densidade dos nutrientes consumidos simultaneamente (Swithers, Martin e Davidson, 2010; Swithers, Baker e Davidson, 2009; Swithers e Davidson, 2008; Duffy e Sigman-Grant, 2004; Rosado e Monteiro, 2001).

Com o crescimento do uso de adoçantes dietéticos no atual comportamento alimentar, milhões de pessoas estão sendo expostas a sabores doces que não estão associados com conseqüências calóricas ou nutritivas. Na natureza, o sabor doce é

um estímulo orosensório preditor de conseqüências calóricas pós-absortivas dos alimentos, como humanos e outros animais freqüentemente o enfrentam, iniciando muito precocemente na vida (no primeiro contato com o leite materno), alimentos naturalmente adoçados são preceptores de maior densidade calórica do que aqueles menos doces (Mattes e Popkin, 2009; Swithers, Swithers e Davidson, 2008; Swithers e Davidson, 2005; Davidson e Swithers, 2005; Shithers e Davidson, 2004; Davidson e Swithers, 2004).

---

***REVISÃO DA LITERATURA***

---

## **REVISÃO DA LITERATURA**

### **1 Obesidade**

#### **1.1 Definição e Epidemiologia**

Segundo a World Health Organization (WHO), a obesidade é uma doença crônica, conseqüente do balanço energético positivo e que acarreta repercussões á saúde com perda importante não só da qualidade, como na expectativa de vida (WHO, 2004).

A obesidade é uma desordem multifatorial, e seu início e progressão têm sido atribuídos a fatores genéticos, ambientais, comportamentais (hábitos alimentares e inatividade física), fatores sociológicos, alterações metabólicas e neuroendócrinas, assim como os componentes hereditários. Consiste numa porcentagem anormalmente elevada da gordura corporal e pode ser generalizada ou localizada (Lopes et al., 2004; Corbalan et al., 2002; Hausman, 2001; Bray, 1987).

O acúmulo excessivo de tecido adiposo deriva do aumento crônico do aporte calórico presente nos alimentos e bebidas (proteínas, hidratos de carbono, lipídios e álcool) em relação ao gasto energético (metabolismo basal, efeito termogênico e atividade física) (Lopes et al., 2004; Corbalan et al., 2002).

O aumento da prevalência da obesidade em todas as camadas sociais, em diferentes populações, incluindo países industrializados e economias em transição, representa um dos principais desafios de saúde pública do início deste século. A obesidade é considerada hoje uma epidemia mundial, refletindo-se no Brasil, onde

as mudanças demográficas, sócio-econômicas e epidemiológicas ao longo do tempo permitiram que ocorresse a denominada transição nos padrões nutricionais, com redução progressiva da desnutrição e aumento das taxas de obesidade. Entre as implicações decorrentes estão o Diabetes Mellitus tipo 2 (DM II), hipercolesterolemia, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, apnéia do sono, problemas psico-sociais, doenças ortopédicas e diversos tipos de câncer (WHO, 2004; Pereira, Francischi e Lancha, 2003).

Dados epidemiológicos indicam que a prevalência de sobrepeso e obesidade praticamente triplicou nas últimas décadas nos Estados Unidos, Europa, e até mesmo nos países em desenvolvimento, sendo considerada uma das maiores epidemias mundiais (Ogden et al., 2007; Silva e Mura, 2007).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o sobrepeso atinge cerca de 1,6 bilhões de indivíduos acima de 15 anos, destes, 400 milhões apresentam obesidade. A obesidade é responsável por cerca de 2% a 6% em média, do total de recursos financeiros destinados à saúde. No Brasil, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) relativos ao biênio 2002-2003, 40% da população apresenta excesso de peso (WHO, 2004; IBGE, 2004).

O ambiente onde vivemos está caracterizado por uma oferta ilimitada de alimentos relativamente baratos, altamente palatáveis e energéticos, associados com um estilo de vida que requer baixos níveis de atividade física, favorecendo o consumo de uma dieta rica em calorias vazias e deficiente em micronutrientes, fibras dietéticas e antioxidantes (Mattes e Popkin, 2009; Hill e Peters, 1998).

Apesar dos avanços científicos terem evidenciado a importância dos fatores genéticos moleculares na determinação da susceptibilidade individual à obesidade, como por exemplo, a descoberta da leptina, proteínas e neuropeptídeos envolvidos

na regulação do peso corporal, não somos capazes de explicar a obesidade epidêmica. Estes dados levantam a questão de que alguns fatores estariam determinando esta epidemia. Considerando-se que a genética da espécie humana não pode ter sofrido mudanças importantes neste intervalo de poucas décadas, certamente os fatores ambientais e comportamentais devem explicar esta epidemia (Hill e Peters, 1998).

## **2 Edulcorantes e Adoçantes Dietéticos**

### **2.1 Conceitos e Definições**

Edulcorantes são substâncias naturais, normalmente extraídas de vegetais e frutas, ou artificiais, produzidas em laboratório, não necessariamente açúcares, que possuem capacidade adoçante superior à da sacarose (Duffy e Sigman-Grant, 2004).

Os adoçantes dietéticos são produtos considerados Alimentos para Fins Especiais, pela Portaria Nº 29, de 13 de janeiro de 1998, recomendados para dietas especiais, quer seja de emagrecimento ou de restrição de açúcar (SVS/MS - Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária: Portaria nº 29, de 13 de janeiro de 1998).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), adoçantes de mesa são produtos especificamente formulados para conferir sabor doce aos alimentos e bebidas, tendo a sacarose (açúcar de cana) como principal exemplo. Já os adoçantes dietéticos conferem doçura sem possuir sacarose na composição, uma

vez que são elaborados para atender às necessidades de pessoas com restrição de carboidratos simples (diabéticos) (SVS/MS - Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária: Portaria nº 38, de 13 de janeiro de 1998).

Os adoçantes dietéticos são constituídos por edulcorantes e agentes de corpo. Os agentes de corpo, também chamados de veículos, são compostos utilizados com a finalidade de diluir os edulcorantes dando volume ao produto. Como os edulcorantes adoçam até 600 vezes mais do que o açúcar, se fossem comercializados na forma pura, teriam que ser usados em quantidades muito pequenas para obter a mesma doçura do açúcar. Então, a diluição facilita o seu uso (Duffy e Sigman-Grant, 2004; Gougeon, Spidel, Lee e Field, 2004).

Os agentes de corpo permitidos pela legislação (Portaria n ° 38, de 13 de janeiro de 1998) são: água, álcool etílico, amidos, amido modificado, dextrinas, dextrose, fruto-oligossacarídeos, frutose, glicerina ou glicerol, isomalte, lactose, maltodextrina, manitol, maltitol e seu xarope, maltodextrina, manitol, polidextrose, polietileno glicol, propileno glicol, sacarose, sorbitol pó ou solução (SVS/MS - Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária: Portaria nº 38, de 13 de janeiro de 1998).

## **2.2 Histórico**

Os adoçantes se popularizaram nos Estados Unidos na década de 60. No Brasil, na década de 80, a legislação brasileira classificava os adoçantes como produtos fármacos e eram comercializados sob orientação médica. Inclusive, eram encarados pela população como exclusivo à diabéticos. Com o tempo, ainda no final

da década de 80, com as mudanças na legislação, houve uma reformulação na classificação dos adoçantes e estes passaram a ser comercializados nas prateleiras dos supermercados. Então o que antes era associado como produto de diabético passou a fazer parte da alimentação da população. As estratégias de marketing como: 'isentos de açúcar e calorias', 'para você que deseja uma vida saudável', 'não causam cáries' fizeram parecer a chegada de um milagre: comer à vontade e não engordar (Duffy e Sigman-Grant, 2004; Gougeon, Spidel, Lee e Field, 2004).

### **2.3 Classificação**

Existem adoçantes artificiais, produzidos sinteticamente, tais como: aspartame, sacarina sódica, ciclamato de sódio, acessulfame K, sucralose, maltitol, lactitol, isomaltitol e neotame, e edulcorantes naturais como: manitol, sorbitol, stévia, taumatina, eritritol e xilitol. Os adoçantes classificados como não nutritivos são: sacarina, ciclamato, acessulfame-k, sucralose, stévia, neotame e aspartame, pois fornecem doçura acentuada, não contêm calorias e são utilizados em quantidades muito pequenas. O aspartame constitui a exceção à regra: apesar de calórico, na dosagem recomendada tem calorias desprezíveis, por causa do seu poder de adoçamento. Os edulcorantes nutritivos: sorbitol, manitol, xilitol, isomaltitol, eritritol, lactitol, maltitol e taumatina, pois fornecem energia e textura aos alimentos, geralmente contêm valor calórico semelhante ao açúcar e são utilizados em quantidades maiores em relação aos não nutritivos (Duffy e Sigman-Grant, 2004; Gougeon, Spidel, Lee e Field, 2004).



## 2.4 Sacarina, Síntese e Propriedades Gerais

O primeiro composto químico a ser utilizado como um substitutivo da sacarose foi a sacarina (a imida do ácido orto-sulfobenzóico), Figura 1, descoberta em 1878. Logo após sua descoberta foi produzido em escala industrial como o primeiro adoçante que não foi um hidrato de carbono (Lehninger, 2007; Baran e Yilmaz, 2006).

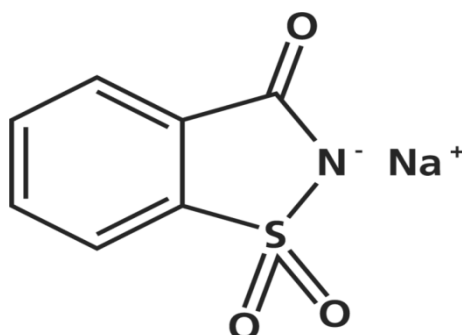


Figura 1 - Estrutura química da sacarina sódica

Como não é muito solúvel em água é normalmente utilizada na forma de sal de sódio ou sal de cálcio, seu poder adoçante é 550 vezes maior do que a sacarose. Além disso, apresenta um sabor amargo e metálico desagradável e o gosto doce ainda é detectável na diluição 1:100.000. Provém do petróleo e do alcatrão derivado do carvão mineral. Em 1986 foi comprovada sua segurança para a saúde através de diversos trabalhos técnico-científicos. A Ingestão Diária Aceitável (IDA) correspondente a 2,5 mg/kg de peso corpóreo (Shils et al., 2009; Lehninger, 2007; Baran e Yilmaz, 2006; Duffy e Sigman-Grant, 2004; Gougeon, Spidel, Lee e Field, 2004).

A sacarina passa através do corpo humano intacta, não fornecendo a energia do alimento, assim, seu conteúdo calórico é zero, é absorvida do trato digestivo e excretada na urina (Sweatman et al., 1981).

### **3 Edulcorantes e Obesidade**

Uma das mudanças no comportamento alimentar que está correlacionada com o curso atual da obesidade é a introdução em larga escala de adoçantes dietéticos (Swithers e Davidson, 2008; The Freedonia Group, 2001; Schiweck, 1999).

Nos últimos anos tem crescido a oferta e o consumo de alimentos com baixo teor de energia (hipocalóricos), acrescidos de adoçantes não calóricos, como forma de controle do peso corporal. Entretanto alguns estudos mostram que o consumo de adoçantes pode não estar associado à perda ponderal (Arsenalt e Cline, 2000).

Observou-se que a ingestão de alimentos hipocalóricos, acrescidos de adoçantes não calóricos, como forma de controle do peso corporal conduz à ativação de mecanismos homeostáticos, conduzindo a um aumento na fome e a uma diminuição da taxa metabólica basal (Rogers, 1999), conseqüentemente, verifica-se a difícil adesão a tais dietas por longos períodos (Roberts, 1999).

O aumento da ingestão de substitutos não calóricos ao açúcar pode promover um aumento na ingestão e ganho de peso corporal. Uma variedade de diferenças no índice de massa corporal, apetite e no padrão de consumo alimentar foram relatados em consumidores de bebidas adoçadas artificialmente (Appleton e Blundell, 2007), e recentes estudos prospectivos têm sugerido uma ligação entre os indivíduos que consomem alimentos (tais como refrigerantes diet) fabricados com adoçantes de alta

intensidade e aumento do risco de obesidade, síndrome metabólica, e pressão sanguínea elevada (Swithers, Martin e Davidson, 2010; Nettleton et al., 2009; Fowler et al., 2008; Lutsey, Steffen e Stevens, 2008; Dhingra et al., 2007; Liebman et al., 2006).

Segundo Fowler et al. (2008), para os seres humanos eutróficos ou não obesos, um consumo maior que 21 doses de bebidas adoçadas com adoçante não calórico por semana estava associado com o dobro do risco de obesidade em comparação com não usuários de adoçantes, em 7 a 8 anos de uso.

Um estudo realizado com 78 mil mulheres, comparando a perda e ganho de peso entre usuárias e não usuárias de adoçantes artificiais revelou que o nível de ganho de peso entre as usuárias de adoçantes foi significativamente superior aos não usuárias. A proporção de usuárias de adoçantes que ganhou peso foi significativamente superior à proporção de não usuárias, não havendo diferença significativa quanto à perda de peso nos dois grupos (Rosado e Monteiro, 2001; Rogers e Blundell, 1989).

Swithers e Davidson (2008) avaliaram a habilidade dos ratos em regular sua ingestão alimentar e peso corporal através da exposição ao iogurte natural com sacarina e puderam observar o aumento da ingestão alimentar, peso corporal, adiposidade, diminuição da compensação calórica, bem como enfraquecimento da resposta termogênica aos alimentos, em ratos submetidos à dieta com adoçante artificial não calórico (Swithers e Davidson, 2008; Cummings e Overduin, 2007).

Neste estudo, a força do contingente sabor doce/conseqüência calórica foi manipulada pela exposição dos ratos ao iogurte natural, onde cada gosto doce tinha como conseqüência o aumento calórico ou não. Os resultados demonstram que, os ratos que recebiam o sabor doce não preditivo (sacarina) para a relação sabor

doce/calorias, exibiam uma maior ingestão calórica, maior ganho de peso, aumento da adiposidade, e um prejuízo na habilidade de compensar o conteúdo calórico de um novo alimento doce (com ingestão menor na refeição subsequente), além de um pequeno aumento na temperatura corporal central seguida do consumo de um novo alimento doce de alta densidade calórica, quando comparados com aqueles onde o sabor doce era capaz de prever um aumento calórico. Ao invés de exibirem menor ganho de peso e adiposidade, os ratos do grupo não preditivo, que ingeriram o iogurte adoçado com sacarina, com menos calorias, ganharam mais peso e tecido adiposo do que aqueles do grupo preditivo, que ingeriram o iogurte adoçado com glicose, com mais calorias. O achado de que o consumo de alimentos com menos calorias leva a um maior ganho de peso e adiposidade corporal do que o consumo de iguais quantidades de uma versão mais calórica do mesmo alimento parece dificultar a homeostase da regulação energética (Cummings e Overduin, 2007; Murphy e Bloom, 2006; Seeley e York, 2005).

Segundo Swithers e Davidson (2008), a ingestão de substâncias doces não calóricas poderia levar a um balanço energético positivo através de um aumento da ingestão alimentar e/ou uma diminuição no gasto energético (Swithers, Baker e Davidson, 2009; Cummings e Overduin, 2007).

Em outro estudo, Swithers, Baker e Davidson (2009) também demonstraram que a ingestão de alimentos ou líquidos contendo adoçantes não nutritivos foi acompanhado por aumento na ingestão alimentar, ganho de peso corporal, acúmulo de gordura corporal e menor compensação calórica, em relação ao consumo de alimentos e líquidos contendo glicose.

### **3.1 Edulcorantes, Estimulação da Fase Cefálica e Termogênese**

Na natureza, o sabor doce pode ser descrito como um estímulo orosensório preditor de conseqüências calóricas pós-absortivas dos alimentos. Humanos e outros animais têm contato com ele muito precocemente (no primeiro contato com o leite materno). Estes alimentos naturalmente adoçados têm maior densidade calórica do que aqueles menos doces. Com o aumento do uso de adoçantes não-calóricos no atual comportamento alimentar, milhões de pessoas estão sendo expostas a sabores doces que não estão associados com conseqüências calóricas ou nutritivas. (Swithers e Davidson, 2005; Davidson e Swithers, 2004).

Um dos mais bem embasados conceitos fisiológicos é o de que animais são capazes de detectar e aprender sobre a relação entre os eventos que estes experimentam, e a sensação a estas relações pode ser registrada por mudanças comportamentais e respostas fisiológicas (Siegel, 2005; Dworkin e Dworkin, 1995; Pavlov, 1927).

É conhecido que estímulos orosensórios (ex, paladar, gosto, textura do alimento) podem ser rápida e fortemente associados com as conseqüências pós-ingestão de alimentos. Por exemplo, o fenômeno de condicionamento aversivo a determinado sabor demonstra que animais irão aprender rapidamente a evitar o consumo de sabores associados a mal-estar gástrico. Estudos indicam que animais associam rapidamente estímulos orosensórios com as conseqüências pós-ingestivas calóricas ou nutritivas de alimentos (Welzl et al., 2001; Sclafani, 2001; Sclafani, 1997).

Substâncias de gosto doces têm sido identificadas como fortes iniciadores de reflexos pré-ingestivos da fase cefálica (hormônios, termogênese, metabolismo)

(Teff, Devine e Engelman, 1995; Tordoff, 1988; Bruce et al., 1987; Berthoud et al., 1980). Funcionalmente os reflexos da face cefálica têm como propósito antecipar e preparar o trato gastrintestinal para a chegada de nutrientes, desta forma aumentando a eficiência na utilização de nutrientes e minimizando a intensidade com que estes nutrientes alteram a homeostase pela produção de um balanço energético positivo (Teff, 2000; Mattes, 1997; Powley e Berthoud, 1985). Para alguns autores como Woods e Ramsay (2000), até pequenas mudanças na evocação destas respostas da fase cefálica podem produzir mudanças na eficiência da utilização da energia, levando em longo prazo a significativos aumentos na ingestão alimentar e peso corporal (Cooling e Blundell, 2000). A Figura 2 mostra esquematicamente uma rede de interações entre fatores psíquico-fisiológicos que controlam a ingestão alimentar.

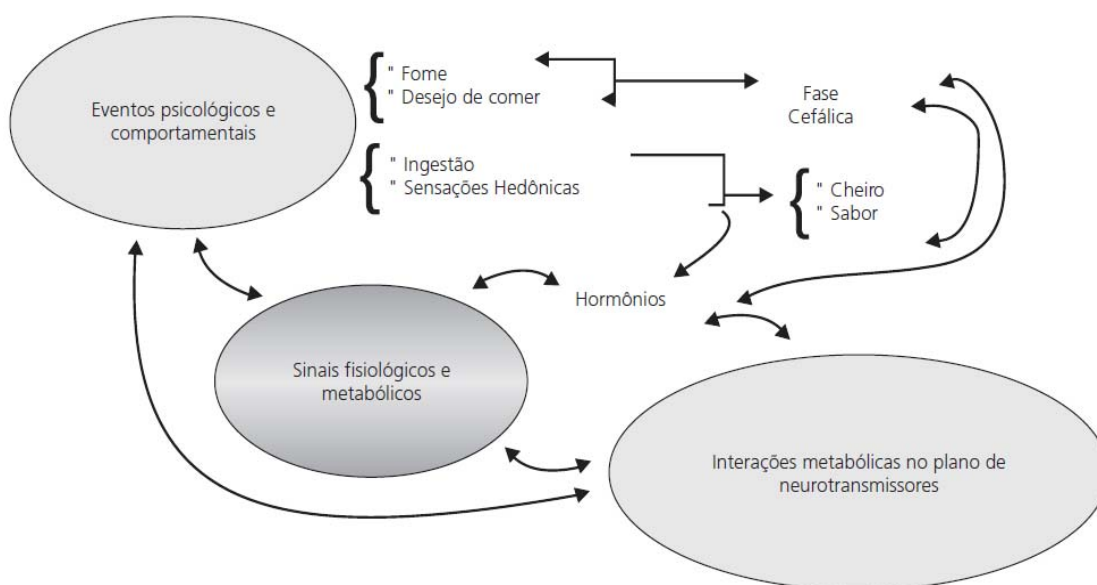


Figura 2 - Rede de interações de um sistema psíquico-fisiológico (Mourão e Bressan, 2009)

Se a eficiência da regulação energética depende, pelo menos em parte, da evocação de respostas da fase cefálica, e estas respostas dependem, em parte, da habilidade do sabor doce na sinalização calórica, então experiências que enfraqueçam esta sinalização, como o uso de adoçantes artificiais não calóricos, podem também gerar distúrbios no controle da ingestão alimentar e peso corporal.

A ingestão de alimentos evoca uma resposta termogênica reflexa (Tappy, 1996; Jequier, 1983), e esta forma de produção de calor pode ser mediada tanto em humanos quanto em animais por estímulos pré-absortivos (orosensórios). Por exemplo, em humanos e em cães, quando o alimento é provado, mas não engolido, a resposta térmica pode exceder a produzida pela refeição normal (LeBlanc e Cabanac, 1989; Diamond, Brondel e LeBlanc, 1985). Em contraste, tanto para humanos quanto para cães, quando os nutrientes passam por uma via secundária a cavidade orofaríngea (gavagem, ou sonda), a resposta termogênica desencadeada pela fase cefálica não é observada ou está muito enfraquecida quando comparada com aquela produzida pela ingestão normal (Diamond, Brondel e LeBlanc, 1985; LeBlanc, Cabanac e Samson, 1984). Se o gosto doce evoca uma resposta térmica baseada, em parte, na capacidade de prever a chegada de calorias ao intestino, um possível poder do sabor doce, e de alimentos de alta caloria poderia ser o de evocar um aumento maior na temperatura corporal central de ratos que tenham sido expostos a um preditor da relação entre o sabor doce e caloria do que ratos que não foram expostos a esta relação (Swithers e Davidson, 2008).

O aumento pré-absortivo na temperatura corporal central pode indicar a evocação de respostas condicionadas da fase cefálica que antecipam e promovem o aumento da utilização de calorias que é normalmente produzida pelo aumento da absorção de nutrientes. A evocação destas respostas depende, pelo menos em

parte, da habilidade do sabor doce em predizer estas conseqüências calóricas e nutritivas pós-absortivas. Portanto, manipulações que interrompam ou degradem a relação entre sabor doce e caloria podem também interferir na habilidade dos estímulos doces de evocar respostas térmicas e outras respostas da fase cefálica. Esta interferência pode levar a uma redução na utilização energética, e em última instância, a um aumento no ganho de peso (Swithers, Martin e Davidson, 2010; Swithers, Baker e Davidson, 2009; Swithers e Davidson, 2008).

Ainda existem dúvidas sobre o sabor doce ser capaz de evocar respostas sobre reflexos térmicos, a ingestão de doces é também acompanhada pela liberação de insulina pré-absortiva ou de fase cefálica. O interessante, é que uma redução na insulina de fase cefálica e nos reflexos termogênicos da fase cefálica têm sido associados com a desregulação energética em humanos. Teff, Mattes, Engelman e Mattern (1993) descreveram que a insulina de fase cefálica é diminuída em humanos obesos quando expressas em proporção a níveis basais de insulina, no entanto, Hashkes, Gartside, e Blondheim (1997) descreveram que humanos obesos exibem uma resposta cefálica enfraquecida quando comparados com controles não obesos após o consumo de *Ensure* em teste de refeição. Pode ser que a magnitude da resposta térmica aos alimentos seja mediada pela liberação de insulina (Laville et al., 1993). Na manutenção desta possibilidade Storlien e Bruce (1989) propuseram que falhas nas respostas da fase cefálica eventualmente levam a um aumento da hiperglicemia pós-prandial e diminuição da termogênese. A hiperglicemia persistente leva a resistência à insulina (como a insulina não disponibiliza de forma eficaz a glicose), e promoção de termogênese pós prandial diminuída promovendo o ganho de peso baseado na redução do gasto energético (Swithers, Martin e Davidson,



2010; Swithers, Baker e Davidson, 2009; Swithers e Davidson, 2008; Watanabe et al., 2006).

Estes estudos sugerem um importante mecanismo pelo qual a degradação da relação preditiva entre o sabor doce e caloria pode levar a um excesso de ingestão alimentar e ganho de peso. O aumento no ganho de peso e adiposidade resultam diretamente de alterações fisiológicas que reduzem o gasto energético pré-prandial da fase cefálica com uma associação com a degradação da resposta térmica ao alimento (Swithers e Davidson, 2008).

Usando um modelo do roedor, Swithers e Davidson (2008) observaram que a ingestão de alimentos ou líquidos contendo adoçantes não nutritivos foi acompanhada pelo aumento na ingestão alimentar, ganho de peso corporal, acúmulo de gordura corporal e menor compensação calórica, em relação ao consumo de alimentos e líquidos contendo glicose. Fornecendo evidências consistentes com a hipótese de que o efeito da sacarina no consumo alimentar pode estar associada a uma diminuição na capacidade de sabor doce para evocar respostas térmicas (Swithers, Martin e Davidson, 2010) .

#### **4 Sacarose e Saciedade**

Os carboidratos são um grupo diverso que inclui os monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos e amidos, feitos a partir de longas cadeias de glicose. A taxa na qual os açúcares (mono e dissacarídeos) e amidos são digeridos, absorvidos e metabolizados são diferentes, porque o comprimento de cadeia mais longa de amido aumenta o tempo necessário para a digestão comparação com

açúcares. Além disso, há uma série de monossacarídeos (glicose, frutose, galactose), que são combinadas para formar dissacarídeos, como a sacarose, lactose e maltose, e também há variações no metabolismo dos diferentes monossacarídeos. Portanto, o efeito de um carboidrato sobre a saciedade depende da forma deste carboidrato (Benelam, 2009).

A concentração de glicose tem um papel importante no controle do apetite. Um grande número de açúcares tem sido investigado por seus efeitos sobre a saciedade. No que se refere à sacarose (um dissacarídeo de glicose e frutose), o consumo de mais de 50g de açúcar, entre 20 a 60 minutos antes de uma refeição, resulta na redução do consumo alimentar, sugerindo que o centro regulador do apetite responde ao conteúdo energético do açúcar. Se o açúcar for substituído pelo adoçante não calórico o centro regulador não responde com a abstenção energética (Benelam, 2009; Anderson e Woodend, 2003; Rosado e Monteiro, 2001; Blundell e Green, 1996; Anderson 1995; Rogers e Blundell, 1989).

A sacarose pode atuar como um biomarcador de saciedade, atuando como fator importante na regulação da ingestão energética, principalmente devido a sua regulação metabólica, estoque limitado e substrato fundamental como fonte de energia para o sistema nervoso central. Sugerindo que as mudanças agudas nas concentrações de glicose plasmática são associadas às variações recíprocas nas sensações do apetite e na ingestão de alimentos (De Graaf et al., 2004; Andrews et al., 1998; Raben et al., 1996; Mayer, 1995).

Existe alguma incerteza quanto os efeitos relativos da glicose e frutose sobre a saciedade. Estudos comparando os dois tendem a serem pequenos e de curto prazo e com resultados conflitantes quanto à saciedade. A glicose e a frutose são

absorvidas e metabolizadas de forma diferente e podem agir em diferentes vias de saciedade (Anderson e Woodend, 2003; Anderson, 1995).

Em resposta à elevação dos níveis glicêmicos, receptores hipotalâmicos enviam sinais para o centro da saciedade, inibindo a ingestão alimentar. Por outro lado, quando a glicemia está baixa, o centro da fome é ativado, induzindo à ingestão alimentar (Stubbs, 1999).

A densidade energética dos alimentos, ao contrário de seu teor em açúcar e gordura, é considerada um fator importante na regulação do consumo de energia (Salmenkallio-Marttila M et al., 2009; Rolls, Bell e Thorwart, 1999; Drenowski, 1998; Poppitt e Prentice, 1996; Prentice e Poppitt, 1996).

Dentre as propriedades físico-químicas dos alimentos a viscosidade também está relacionada a alterações na ingestão alimentar. Uma maior viscosidade retardaria o esvaziamento gástrico, aumentando o tempo de saciedade. Portanto, de uma forma geral, alimentos mais viscosos tendem a retardar a sensação de fome por mais tempo do que alimentos menos viscosos (Mourão e Bressan, 2009).

O valor energético do carboidrato pode ser considerado o componente mais importante na eficiência da saciedade e a sua substituição pelo adoçante não energético não resultaria em abstenção e sim compensação calórica, principalmente em alimentos ricos em lipídios (Mattes e Popkin, 2009; Rosado e Monteiro, 2001; Blundell e Green, 1996).

A ingestão de sacarose, em alguns estudos diminuiu o consumo de energia na refeição seguinte (Woodend e Anderson, 2001; Lavin, French e Read, 1997). Parece que a energia de sacarose é compensada pela redução da ingestão de energia proveniente de outras fontes (Salmenkallio-Marttila M et al., 2009).

Os efeitos da substituição de sacarose por adoçantes artificiais sobre a regulamentação em curto prazo da ingestão de alimentos não tenham um resultado claro, em alguns estudos, os adoçantes artificiais aumentaram o apetite (Drenowski, 1998). Também tem sido proposto que os usuários regulares de adoçantes adoçados artificialmente podem aprender a compensar a falta calorías. (Astrup, 2006; Dietz, 2006).

A ingestão de carboidratos estimula a secreção de uma série de hormônios gastrointestinais, como a amilina (van Hulst et al., 1996; Mitsukawa et al., 1990), as incretinas, glucagon-like peptide-1 (GLP-1) e glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) (Burcelin, 2005; Schirra et al., 1996) e a insulina (Lavin et al., 1998). Todos esses hormônios têm se mostrado sinais de saciedade (Verdich et al., 2001a; Verdich et al., 2001b; Flint et al., 2000; Turton et al., 1996; Tempel e Leibowitz, 1994), com excessão do GIP (Strader e Woods, 2005).

#### **4.1 Sacarose: Composição Química**

A sacarose ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ), Figura 3, é um tipo de glicídio do tipo dissacarídeo, formada a partir da ligação de dois monossacarídeos (uma molécula de glicose e uma de frutose) produzida pela planta ao realizar o processo de fotossíntese. O amido, ao ser digerido, nunca passa a ser sacarose, ele passa sempre a ser maltose (Shils et al., 2009; Lehninger, 2007; Silva e Mura, 2007).

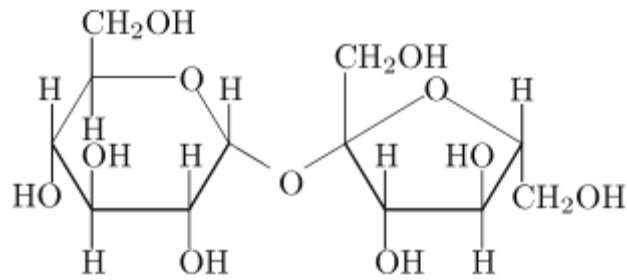


Figura 3 - Composição química da sacarose

A sacarose, o açúcar comum comercial, é amplamente distribuído entre as plantas superiores. Encontra-se na cana de açúcar (*Sacharum officinarum*) e na beterraba (*Beta vulgaris*), sendo que o suco da primeira, a garapa, contém de 15-20% e o da segunda de 14-18% de sacarose. É doce e a sua fermentação por leveduras é muito utilizada comercialmente (Shils et al., 2009; Lehninger, 2007; Silva e Mura, 2007).

A glicose é um hidrato de carbono do tipo monossacarídeo a sua fórmula molecular é  $C_6H_{12}O_6$ , encontrado na natureza na forma livre ou combinada. Juntamente com a frutose e a galactose, é um hidrato de carbono fundamental. No metabolismo, a glicose é uma das principais fontes de energia, as células a usam como fonte de energia e intermediário metabólico. É um dos principais produtos da fotossíntese e inicia a respiração celular em procariontes e eucariontes. É um cristal sólido de sabor adocicado, encontrado na natureza na forma livre ou combinada. Juntamente com a frutose e a galactose, é o carboidrato fundamental de carboidratos maiores, como sacarose e maltose. Amido e celulose são polímeros de glucose. É encontrada nas uvas e em vários frutos. Industrialmente é obtida a partir do amido (Shils et al., 2009; Lehninger, 2007; Silva e Mura, 2007).

A Frutose é um monossacarídeo ( $C_6H_{12}O_6$ ), com os carbonos dispostos em anel, muito encontrado em frutas. É mais doce que a sacarose, que é o açúcar

refinado comum. No organismo humano, a frutose é fosforilada a frutose-6-fosfato pela hexocínase, seguindo, posteriormente, para a glicólise onde é metabolizada a Trifosfato de Adenosina (ATP). No fígado, contudo, a frutose é transformada em gliceraldeído-3-fosfato e só depois entra na via glicolítica. Desta forma, entra depois do maior ponto de regulação da actividade glicolítica, a reacção catalizada pela cínase da frutose fosforilada. Assim, um consumo excessivo de frutose leva a uma saturação da via glicolítica, o que leva à formação de elevadas quantidades de acetil-CoA o que aumenta a biossíntese de ácidos graxos, provocando acumulação de gorduras no tecido adiposo. O esperma humano é rico em frutose. A frutose e a glicose estão fortemente presentes nas uvas, e são a base química do vinho. A ação de leveduras sobre esses açúcares (e nunca sobre sacarose) faz a transformação dos açúcares em álcool etílico e gás carbônico (Lehninger, 2007; Barreiros, Bossolan e Trindade, 2005).

## **5 Mecanismos de Controle da Fome e Saciedade**

A regulação do apetite ocorre através de sinais periféricos e centrais. A grelina é um sinal periférico proveniente do estômago, a leptina é proveniente do tecido adiposo branco e o peptídeo YY (PYY) do intestino grosso. A grelina funciona como um iniciador da alimentação, enquanto a leptina e o PYY são supressores da alimentação. Estes sinais, secretados em seus locais de origem, chegam ao hipotálamo através da circulação (Lindqvist, Baelemans e Erlanson-Albertsson, 2008; Seeley e York, 2005; Cuppler, 2003; Seeley e Moran, 2002; Williams et al., 2001).

A saciedade é influenciada tanto por um sistema a curto prazo (sinais em resposta ao consumo de alimentos) ou a longo prazo (sinais que indicam os níveis das reservas de energia no corpo). Estes agem de várias maneiras sobre o hipotálamo no cérebro, que por sua vez, produz sinais que afetam o consumo e gasto energético (Benelam, 2009; Konturek et al., 2005). A Figura 4 mostra os principais fatores fisiológicos e os mecanismos corporais relacionados ao controle da ingestão alimentar e à compensação energética, a curto e a longo prazo.

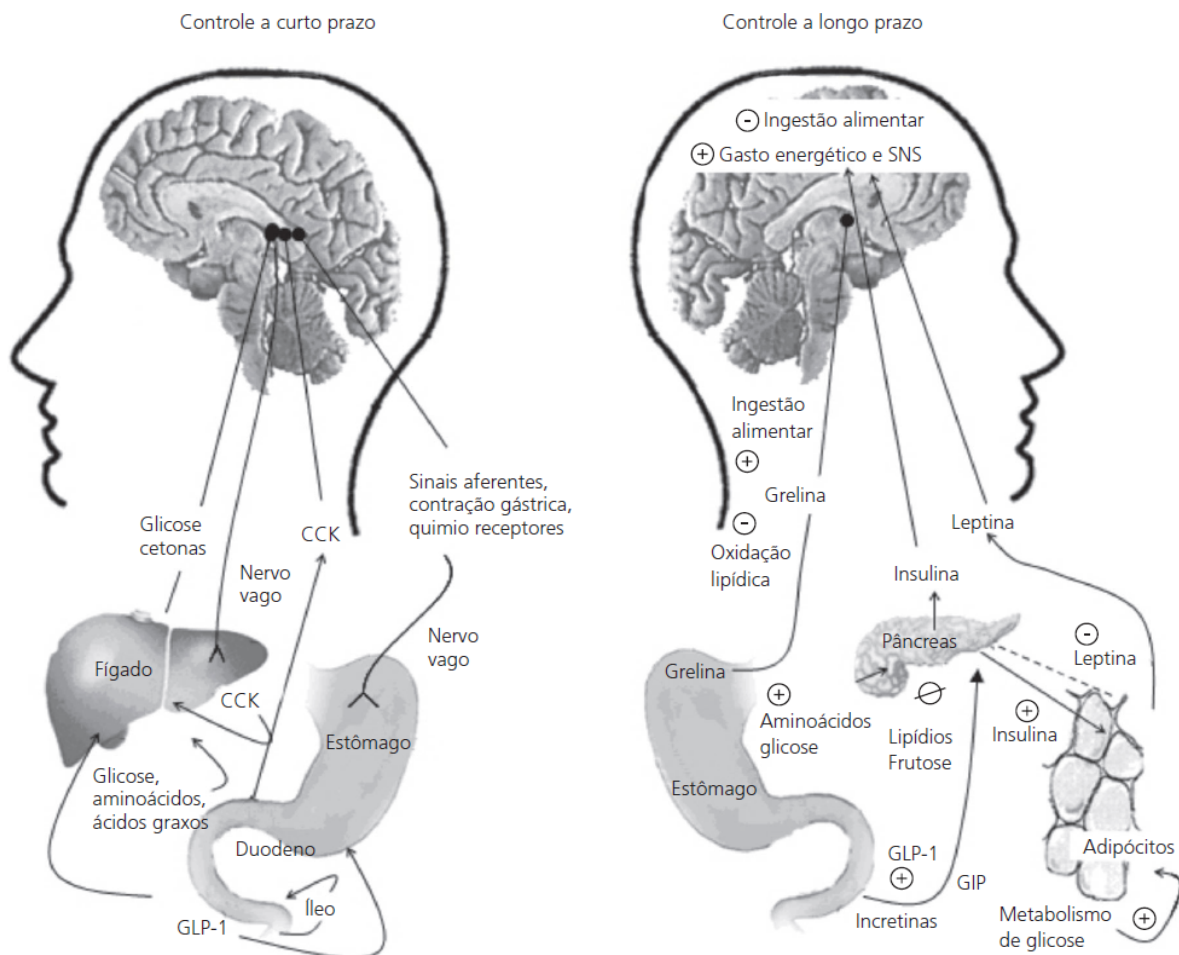


Figura 4 - Principais fatores fisiológicos e mecanismos corporais relacionados ao controle da ingestão alimentar e à compensação energética, a curto e longo prazo. Seta contínua e/ou sinal positivo indicam estimulação, seta descontinua e/ou sinal negativo indicam inibição; CCK: colecistocinina; GLP-1: peptídeo semelhante ao glucagon; NPY: neuropeptídeo Y; GIP: peptídeo insulínico dependente de glicose; SNS: sistema nervoso simpático (Mourão e Bressan, 2009).

Os primeiros experimentos em animais envolvendo estimulação ou danos a regiões diferentes do cérebro estabeleceram o hipotálamo como um centro de controle do apetite através de vias com origem no núcleo arqueado do hipotálamo, que controla alimentação e saciedade. Estas vias podem ser divididas em anorexígenas (inibem a alimentação) e orexígenas (estimulam a alimentação). Cada via pode ser estimulada ou inibida por sinais provenientes do intestino, pâncreas e tecido adiposo. O efeito geral é aumento das despesas de alimentação e diminuição de energia, ou vice-versa, dependendo da disponibilidade de nutrientes e os níveis de armazenamento como energia no corpo (Benelam, 2009; Halpern, Rodrigues e Da Costa, 2004; Sainsbury, Cooney e Herzog, 2002; Schawartz et al., 2000; Morgane & Jacobs 1969).

Os neuropeptídeos orexígenos são o neuropeptídeo Y (NPY) e o peptídeo relacionado ao agouti (AgRP); já os neuropeptídeos anorexígenos são o hormônio estimulador da melanocortina ( $\alpha$ -MSH) e o transcrito relacionado à cocaína e à anfetamina (CART). Os neurônios que expressam esses neuropeptídeos interagem entre si e com sinais periféricos (como a leptina, insulina, grelina e glicocorticóides), atuando na regulação do controle alimentar e do gasto energético (Benelam, 2009; Halpern, Rodrigues e Da Costa, 2004; Sainsbury, Cooney e Herzog, 2002; Schawartz et al., 2000).

### **5.1 Via Hipotalâmica Anorexígena**

Neurônios que expressam os neuropeptídeos pró-opiomelanocortina (POMC) e CART tem um efeito anorexígeno e são estimuladas pela leptina. POMC é um



precursor para o neuropeptídeo  $\alpha$ -MSH, que atua nos receptores de melanocortina 3 (MC3) e melanocortina 4 (MC4). Administração de  $\alpha$ -MSH em ratos inibe a alimentação e aumenta gasto energético; seres humanos e animais que têm um gene mutante de POMC ou MC4 são hiperfágicos e obesos. CART é co-expressa com POMC no hipotálamo. Administração da CART em ratos inibe a alimentação tanto em condições normais e durante a inanição. Por outro lado, inibindo as ações de alimentação aumenta a CART (Konturek et al., 2005; Ellacott e Cone, 2004; Pierroz et al., 2002; Kristensen et al., 1998; Rossi et al., 1998).

## **5.2 Via Hipotalâmica Orexígena**

Neurônios que expressam NPY e AgRP são orexígenos e estimulados pela grelina e inibidos pelo PYY, GLP-1, oxintomodulina (OXM), pâncreas polipeptídeo (PP), insulina e leptina. A administração de NPY em modelos animais causa hiperfagia e obesidade e reduz o gasto energético. NPY aumenta a ingestão de alimentos e diminuir gasto energético, agindo sobre os receptores Y1 e Y5 no hipotálamo. NPY podem também ter um efeito inibitório sobre os neurônios, produzindo POMC, portanto, ter um duplo efeito de estimular a alimentação, enquanto que as vias inibindo reduzir a alimentação. AgRP é um antagonista do MC3 e receptores MC4, inibindo o efeito redutor de  $\alpha$ -MSH sobre o apetite, por isso a injeção de AgRP provoca um aumento na ingestão de alimentos em ratos (Konturek et al., 2005; Roseberry et al., 2004; Gehlert, 1999; Rossi et al., 1998; Billington et al., 1991; Stanley et al., 1986).

---

## ***OBJETIVOS***

---

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo Geral**

Comparar o efeito da suplementação com sacarina e ou sacarose no peso corporal e consumo energético de ratos Wistar, procurando responder à dúvida de se é a sacarina que aumenta o apetite ou a sacarose que induz a saciedade.

### **Objetivos Específicos**

- Determinar o ganho cumulativo de peso;
- Determinar a diferença de ganho de peso final-inicial;
- Avaliar a evolução do ganho de peso;
- Determinar o consumo calórico total cumulativo corrigido pelo peso semanal;
- Determinar o consumo calórico cumulativo proveniente do consumo de ração corrigido pelo peso semanal;
- Determinar o consumo calórico total.

---

## ***REFERÊNCIAS***

---

## REFERÊNCIAS

- Anderson GH. Sugars, sweetness and food intake. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62:195-202, 1995.
- Anderson GH, Woodend D. Consumption of sugars and the regulation of short-term energy intake. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78:843-849, 2003.
- Andrews JM, Rayner CK, Doran S, Hebbard GS, Horowitz M. Physiological changes in blood glucose affect appetite and pyloric motility during intraduodenal lipid infusion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 275(4):G797-G804, 1998.
- Appleton KM e Blundell JE. Habitual high and low consumers of artificially-sweetened beverages: Effects of sweet taste and energy on short-term appetite. *Physiology and Behavior*, 92:479-486, 2007.
- Arsenualt LE, Cline AD. Nutrient intakes characteristics of normal weight, female military personnel consuming foods reduced in fat our energy content. *Appetite*, 34:227-233, 2000.
- Astrup A. Carbohydrates as macronutrients in relation to protein and fat for body weight control. *International Journal of Obesity*, 30:S4-S9, 2006.
- Baran EJ, Yilmaz VT. *Coordination Chemistry Reviews* 250 (2006) 1980–1999.
- Barreiros RC, Bossolan G e Trindade CEP. Frutose em humanos: efeitos metabólicos, utilização clínica e erros inatos associados. *Rev. Nutr*, 18(3):377-389, 2005
- Benelam B. Satiating, satiety and their effects on eating behavior. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*, 34:126-173, 2009.
- Berthoud HR, Trimble ER, Siegel EG, et al. Cephalic-phase insulin secretion in normal and pancreatic islet-transplanted rats. *American Journal of Physiology*, 238: E336-E340, 1980.
- Billington CJ, Briggs JE, Grace M et al. Effects of intracerebroventricular injection of neuropeptide Y on energy metabolism. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 260:R321-327, 1991.
- Blundell JE, Green SM. Effects of sucrose and sweeteners on appetite and energy intake. *International Journal of Obesity*, 20(2):12S-17S, 1996. Supplement.
- Bray GA. Overweight is risking fate. Definition, classification, prevalence and risks. *Ann. N.Y. Acad Sci*, 249:14-28, 1987.

Bruce DG, Storlien LH, Furler SM, Chisholm DJ. Cephalic phase metabolic responses in normal weight adults. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 36:721-725, 1987.

Burcelin R. The incretins: a link between nutrients and well-being. *British Journal of Nutrition*, 93(l):S147-S156, 2005.

Cooling J, Blundell JE. Lean male high- and low-fat phenotypes– different routes for achieving energy balance. *International Journal of Obesity*, 24:1561-1566, 2000.

Corbalan MS, Marti A, Forga L, Martinez-Gonzalez MA, Martinez JA. Beta(2)-Adrenergic receptor mutation and abdominal obesity risk: effect modification by gender and HDL-cholesterol. *Eur J Nutr*, 41:114-8, 2002.

Cummings DE, Overduin J. Gastrointestinal regulation of food intake. *Journal of Clinical Investigation*, 117:13-23, 2007.

Cuppler WA. The motivated hypothalamus. *Am. J. Physiol Reg Int Comp Physiol*, 284:R1375, 2003.

Davidson TL, Swithers SE. A Pavlovian approach to the problem of obesity. *International Journal of Obesity*, 28:933-935, 2004.

Davidson TL, Swithers SE. Food viscosity influences caloric intake compensation and body weight in rats. *Obesity Research*, 13:537-544, 2005.

De Graaf C, Blom WA, Smeets PA.; Stafleu A, Hendriks HF. Biomarkers of satiation and satiety. *Am J Clin Nutr*, 79:946-61, 2004.

de la Hunty A, Gibson S, Ashwell M. A review of the effectiveness of aspartame in helping with weight control. *Br Nutr Found Nutr Bull* 2006, (31):115–128, 2006.

Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF, et al. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation*, 116:480-488, 2007.

Diamond P, Brondel L e LeBlanc J. Palatability and postprandial thermogenesis in dogs. *American Journal of Physiology*, 248:E75-E79, 1985.

Dietz WH. Sugar-sweetened beverages, milk intake, and obesity in children and adolescents. *Editorial J Pediatr*, 148:152-154, 2006.

Drewnowski A. Energy density, palatability, and satiety: implications for weight control. *Nutrition Reviews*, 56:347-353, 1998.

Dworkin BR, Dworkin S. Learning of physiological response: II. Classical conditioning of the baroreflex. *Behavioral Neuroscience*, 109:1119-1136, 1995.

Duffy VB, Sigman-Grant M. Position of the American Dietetic Association: Use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *Journal of the American Dietetic Association*, 104: 255-275, 2004.

Ellacott KL, Cone RD. The central melanocortin system and the integration of short and long-term regulators of energy homeostasis. *Recent Progress in Hormone Research*, 59:395-408, 2004.

Flint A, Raben A, Blundell JE e Astrup A. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. *Int. J. Obes*, 24:38-48, 2000.

Fowler SP, Williams K, Resendez RG, Hunt KJ, Hazuda HP e Stern MP. Fueling the obesity epidemic? Artificially sweetened beverage use and long-term weight gain. *Obesity (Silver Spring)*, 16:1894-1900, 2008.

Gehlert DR. Role of hypothalamic neuropeptide Y in feeding and obesity. *Neuropeptides*, 33:329-338, 1998.

Gougeon R, Spidel M, Lee K, Field CJ. Canadian Diabetes Association National Nutrition Committee Technical Review: Non-nutritive Intense Sweeteners in Diabetes Management. *Canadian Journal of Diabetes*, 28(4):385-399, 2004.

Halpern ZSC, Rodrigues MDB, Da Costa RF. Determinantes fisiológicos do controle do peso e apetite. *Rev Psiquiatr Clin*, 31(4):150-153, 2004.

Hashkes PJ, Gartside PS e Blondheim SH. Effect of food palatability on early (cephalic) phase of diet-induced thermogenesis in nonobese and obese man. *International Journal of Obesity*, 21:608-613, 1997.

Hausman DB, Digirolamo M, Bartness TJ, Hausman GJ, Martin RJ. The Biology of white adipocyte proliferation. *Obesity reviews*, 2:239-254, 2001.

Hill JO, Peters JC. Environmental contributions to the obesity epidemic. *Science*, 280:1371-1374, 1998.

IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003. Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil. IBGE: Janeiro, 2004.

Jequier E. Thermogenic responses induced by nutrients in man: Their importance in energy balance regulation. *Experientia: Supplementum*, 44:26-44, 1983.

Konturek PC, Konturek JW, Cześniakiewicz-Guzik M, Brzozowski T, Sito E, Konturek SJ. Neuro-hormonal control of food intake: basic mechanisms and clinical implications. *J Physiol Pharmacol*. 56(6):5-25, 2005.

Kristensen P, Judge ME, Thim L et al. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature*, 393:72-76, 1998.

Laville M, Cornu C, Normand S, Mithieux G, Beylot M e Riou JP. Decreased glucose-induced thermogenesis at the onset of obesity. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57:851-856, 1993.

Lavin JH, French SJ e Read NW. The effect of sucrose- and aspartame-sweetened drinks on energy intake, hunger and food choice of female, moderately restrained eaters. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 21:37-42, 1997.

Lavin JH, Wittert G, Andrews J et al. Interaction of insulin, glucagon-like peptide 1, gastric inhibitory polypeptide, and appetite in response to intraduodenal carbohydrate. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68:591-598, 1998.

LeBlanc J e Cabanac M. Cephalic postprandial thermogenesis in human subjects. *Physiology & Behavior*, 46:479-482, 1989.

LeBlanc J, Cabanac M e Samson P. Reduced postprandial heat production with gavage as compared with meal feeding in human subjects. *American Journal of Physiology*, 246:E95-E101, 1984.

Lehninger AL. *Princípios de bioquímica*. 4 ed. São Paulo: Sarvier, 2007.

Liebman M, Pelican S, Moore SA, et al. Dietary intake-, eating behavior-, and physical activity-related determinants of high body mass index in the 2003 Wellness in the Rockies cross-sectional study. *Nutrition Research*, 26:111-117, 2006.

Lindqvist A, Baelemans A, Erlanson-Albertsson A. Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. *Regulatory Peptides*, 150:26-32, 2008.

Lopes IM, Marti A, Aliaga MJM, Martinez A. Aspectos genéticos da obesidade. *Rev. Nutr.*, 17(3):327-338, 2004.

Lutsey PL, Steffen LM e Stevens J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: The Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation*, 117:754-761, 2008.

Mattes RD. Physiologic responses to sensory stimulation by food: Nutritional implications. *Journal of the American Dietetic Association*, 97:406-413, 1997.

Mattes RD, Popkin BM. Nonnutritive sweetener consumption in humans: effects on appetite and food intake and their putative mechanisms. *Am J Clin Nutr*, 89:1-14, 2009.

Mayer J. Regulation of energy intake and the body weight: the glucostatic theory and the lipostatic hypothesis. *Ann N Y Acad Sci*, 63:15-43, 1955.

Mayer J. Glucostatic mechanism of regulation of food intake. *N Engl J Med*, 249:13-6, 1953.

Mitsukawa T, Takemura J, Asai J, Nakazato M, Kangawa K, Matsuo H, Matsukura S. Islet amyloid polypeptide response to glucose, insulin, and somatostatin analogue administration. *Diabetes*, 39:639-642, 1990.



Morgane PJ, Jacobs HL. Hunger and satiety. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 10:100-213, 1969.

Mourão DM, Bressan J. Influência de alimentos líquidos e sólidos no controle do apetite. *Rev Nutr*, 22(4):537-547, 2009.

Murphy KG, Bloom SR. Gut hormones and the regulation of energy homeostasis. *Nature*, 444:854-859, 2006.

Nettleton JA, Polak JF, Tracy R, Burke GL, Jacobs DR. Dietary patterns and incident cardiovascular disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis, *Am J Clin Nutr*, 90(3): 647-654, 2009.

Ogden CL, Yanovski SZ, Carroll MD, Flegal KM. The epidemiology of obesity. *Gastroenterology*, 132(6):2087-102, 2007.

Pavlov I. *Conditioned reflexes*. New York: Oxford University Press, 1927.

Pereira LO, Francischi RP, Lancha AH. Obesity: dietary intake, sedentarism and insulin resistance. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, 47(2), 2003.

Pierroz DD, Ziotopoulou M, Ungsunan L et al. Effects of acute and chronic administration of the melanocortin agonist MTII in mice with diet-induced obesity. *Diabetes*, 51:1337-45, 2002.

Poppitt SD e Prentice AM. Energy density and its role in the control of food intake: evidence from metabolic and community studies. *Appetite*, 26:154-174, 1996.

Powley TL, Berthoud HR. Diet and cephalic phase insulin responses. *American Journal of Clinical Nutrition*, 42(5):991-1002, 1985.

Prentice AM, Poppitt SD. Importance of energy density and macronutrients in the regulation of energy intake. *International Journal of Obesity*, 20:S18–S23, 1996.

Raben A, Holst JJ, Christensen NJ, Astrup A. Determinants of postprandial appetite sensations: macronutrient intake and glucose metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 20:161-169, 1996.

Roberts SB. High glycemic index foods, overeating, and obesity. *Pediatrics*, 103(3): E26, 1999.

Rogers PJ. Eating habits and appetite control: a psychobiological perspective. *Proc Nutr Soc*, 58(1):59-67, 1999.

Rogers P, Blundell JE. Evaluation of the influence of intense sweeteners on the short-term control of appetite and caloric intake: a psychobiological approach. *In: Grenby TH. (Ed.). Progress in Sweeteners*. London : Elsevier Applied Science, 267-289, 1989.

Rolls BJ, Bell EA, Thorwart ML. Water incorporated into a food but not served with a food decreases energy intake in lean women. *Am J Clin Nutr*, 70:448-455, 1999.

Rosado EL, Monteiro JBR. Obesidade e a substituição de macronutrientes da dieta. *Rev. Nutr.*, Campinas, 14(2): 145-152, 2001.

Roseberry AG, Liu H, Jackson AC et al. Neuropeptide Y-mediated inhibition of proopiomelanocortin neurons in the arcuate nucleus shows enhanced desensitization in ob/ob mice. *Neuron*, 41:711-22, 2004.

Rossi M, Kim MS, Morgan CJ et al. A C-terminal fragment of Agouti-related proetin increases feeding and antagonises the effect of alpha-melanocyte stimulating hormone in vivo. *Endocrinology*, 139:4428-31, 1998.

Salmenkallio-Marttila M, Due A, Gunnarsdottir I, Karhunen L, Saarela M and Lyly M. Satiety, weight management and foods - Literature review. 2009.

Sainsbury A, Cooney G J, Herzog H. Hypothalamic regulation of energy homeostasis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 16(4):623-37, 2002.

Schirra J, Katschinski M, Weidmann C. et al. Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans. *J Clin Invest*, 97:92-103, 1993.

Schiweck H. From sugar to sweetener market. *Zuckerindustrie*, 124:611-615, 1999.

Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404:661-671, 2000.

Sclafani A. Learned controls of ingestive behaviour. *Appetite*, 29:153-158, 1997.

Sclafani A. Post-ingestive positive controls of ingestive behavior. *Appetite*, 36:79-83, 2001.

Seeley RJ, Moran TH. Principles for interpreting interactions among multiples systems that influence food intake. *Am. J. Physiol Reg Int Comp Physiol*, 283:R46-R53, 2002.

Seeley RJ, York DA. Fuel sensing and the central nervous system (CNS): Implications for the regulation of energy balance and the treatment for obesity. *Obesity Reviews*, 6:259-265, 2005.

Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross C. *Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença*. São Paulo: Manole, 2009.

Siegel S. Drug tolerance, drug addiction, and drug anticipation. *Current Directions in Psychological Science*, 14:296-300, 2005.

Silva SMCS, Mura JDP. *Tratado de alimentação, nutrição & dietoterapia*. 1.ed. São Paulo: Roca, 2007.

Stanley BG, Kyrkouli SE, Lampert S et al. Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. *Peptides*, 7:1189-1192, 1986.

Storlien LH e Bruce DG. Mind over metabolism: The cephalic phase in relation to non-insulin-dependent diabetes and obesity. *Biological Psychology*, 28:3-23, 1989.

Strader AD, Woods SC. Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology*, 128:175-191, 2005.

SVS/MS - Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária: Portaria nº 29, de 13 de janeiro de 1998. Acessado em 18/04/2010. <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php>.

SVS/MS - Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária: Portaria nº 38, de 13 de janeiro de 1998. Acessado em 18/04/2010. <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php>.

Stubbs JT. Peripheral signals affecting food intake. *Nutrition*, 15:614-625, 1999.

Sweatman TW, Renwick AG, Burgess CD. The pharmacokinetics of saccharin in man. *Xenobiotica* 11:531-540, 1981.

Swithers SE, Baker CR, Davidson TL. General and Persistent Effects of High-Intensity Sweeteners on BodyWeight Gain and Caloric Compensation in Rats. *Behavioral Neuroscience*, 123(4):772-780, 2009.

Swithers SE, Doerflinger A, Davidson TL. Consistent relationships between sensory properties of savory snack foods and calories influence regulation of food intake in rats. *International Journal of Obesity*, 30,1685-1692, 2006.

Swithers SE, Davidson TL. A role for sweet taste: Calorie predictive relations in energy regulation by rats. *Behavioral Neuroscience*, 122(1):161-173, 2008.

Swithers SE, Davidson TL. Influence of early dietary experience on energy regulation. *Physiology & Behavior*, 86:669-680, 2005.

Swithers SE, Martin AA, Davidson TL. High-intensity sweeteners and energy balance. *Physiology & Behavior*, 100(1):55-62, 2010.

Tappy L. Thermic effect of food and sympathetic nervous system activity in humans. *Reproduction, Nutrition, Development*, 36:391-397, 1996.

Teff KL, Devine J, Engelman K. Sweet taste: Effect on cephalic phase insulin release in men. *Physiology & Behavior*, 57:1089-1095, 1995.

Teff KL, Mattes RD, Engelman K e Mattern J. Cephalicphase insulin in obese and normal-weight men: Relation to postprandial insulin. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 42:1600-1608, 1993.

Teff KL. Nutritional implications of the cephalic-phase reflexes: Endocrine responses. *Appetite*, 34:206-213, 2000.

Tempel DL, Leibowitz SF. Adrenal steroid receptors: interactions with brain neuropeptide systems in relation to nutrient intake and metabolism. *Journal of Neuroendocrinology*, 6(5):479-501, 1994.

The Freedonia Group. Artificial sweeteners and fat replacers. *International Sugar Journal*, 103-32, 2001.

Tordoff MG. How do non-nutritive sweeteners increase food intake? *Appetite*, 11(1):5-11, 1988.

Turton MD, O'Shea D, Gunn I, Beak SA, Edwards CM, Meeran K, Choi SJ, Taylor GM, Heath MM, Lambert PD, Wilding JP, Smith D, Ghatei MA, Herbert J, Bloom SR. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature*, 379:69-72, 1996.

van Hulst KL, Nieuwenhuis MG, Höppener JW, Lips CJ, Blankenstein MA. Lack of islet amyloid polypeptide/amylin-immunoreactivity in urine collected from healthy volunteers after ingestion of a carbohydrate-rich meal. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 104:177-179, 1996.

Velloso LA. O Controle Hipotalâmico da Fome e da Termogênese – Implicações no Desenvolvimento da Obesidade. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 50(2):165-176, 2006.

Verdich C, Flint A, Gutzwiller JP, Naslund E, Beglinger C, Hellstrom PM, Long SJ, Morgan LM, Holst JJ, Astrup A. A meta-analysis of the effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide on ad libitum energy intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 86:4382-4389, 2001a.

Verdich C, Toubro S, Buemann B, Lysgard MJ, Juul HJ, Astrup A. The role of postprandial releases of insulin and incretin hormones in meal-induced satiety – effect of obesity and weight reduction, 25:1206-1214, 2001b.

Watanabe T, Nomura M, Nakayasu K, Kawano T, Ito S e Nakaya Y. Relationships between thermic effect of food, insulin resistance and autonomic nervous activity. *Journal of Medical Investigation*, 53:153-158, 2006.

Welzl H, D'Adamo P, Lipp HP. Conditioned taste aversion as a learning and memory paradigm. *Behavioural Brain Research*, 125, 205–213, 2001.

WHO - World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic of obesity. Geneva: WHO, 2004

WHO - World Health Organization. Obesity – Preventing and managing the global epidemic, Geneva: Report of a WHO Consultation on Obesity, 1998.

Williams G, Bing C, Cai XJ, Harold JA, King PJ & Liu XH. The hypothalamus and the control of energy homeostasis: different circuits, different purposes. *Physiol Behav*, 74:683-701, 2001.

Woodend DM e Anderson GH. Effect of sucrose and safflower oil preloads on short term appetite and food intake of young men. *Appetite*, 37:185-195, 2001.

Woods SC, Ramsay DS. Pavlovian influences over food and drug intake. Behavioural Brain Research, 110:175-182, 2000.

---

***ARTIGO***

---

**Effect of Supplementation with Saccharin and Sucrose in Weight Gain and Energetic Consumption with an Unrestricted Diet in Wistar Rats**

<sup>1</sup>Fernanda de Matos Feijó, <sup>1</sup>Cíntia Reis, <sup>1</sup>Kelly Carraro Foletto, <sup>2</sup>Bruna Aparecida Melo Batista, <sup>2</sup>Alice Magagnin Neves, <sup>2</sup>Maria Flávia Marques Ribeiro, <sup>1</sup> <sup>3</sup>Marcello

Casaccia Bertoluci

Support: Research and Events Incentive Fund of the Hospital of Clinics of Porto Alegre (FIPE) and the Coordination of Improvement of Superior Level Personnel (CAPES).

Correspondence: Marcello Casaccia Bertoluci  
99 Ildfonso Simões Lopes street, Porto Alegre, RS, Brazil, zip code: 91330-180  
Phone: + 55 51 33347414 - FAX: 55 51 33349925  
E-mail: mbertoluci@uol.com.br

---

<sup>1</sup>Post-Graduation Program in Medicine: Medical Sciences of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), <sup>2</sup>Department of Physiology at UFRGS, <sup>3</sup>Service of Internal Medicine of the Hospital of Clinics of Porto Alegre (HCPA)-UFRGS.

## Abstract

**Objective:** It has been suggested that the use of saccharin promotes body weight increase in rats through alterations in regulating food intake. The objective of this study was to compare the effect of saccharin and sucrose in food intake and weight of Wistar rats.

**Methods: Experiment 1:** We conducted a pilot study with 16 male rats, where each animal received feeding for 12 weeks according to the following groups: C1: (free chow-only), C2: (free-chow plus 30mL/day of yogurt without supplements), Sucrose: (free chow plus 30mL/day of yogurt with sucrose 20%) and Saccharin (free chow plus 30mL/day of yogurt with saccharin 0.3%). After the 12th week, these animals remained for further 9 weeks with free-chow and water ad lib in order to observe the reversibility of the effect in their weight gain and in total energy intake and chow-energy intake. **Experiment 2:** In order to confirm data, in a similar protocol, 40 male rats received free-chow for 12 weeks, according to the exactly same groups: Cumulative weight gain, cumulative total caloric intake and cumulative chow intake were studied.

**Results: Experiment 1:** After 12 weeks, Saccharin and C2 groups presented similar weight gain each other but an increased weight gain in relation to Sucrose and C1 groups. Saccharin and C2 groups were similar in total and chow energy intake, however, Saccharin presented greater intake of chow and total calories in relation to Sucrose. On the other hand, total caloric intake was similar between Sucrose and C1 groups and there was no difference in weight between these two groups. However, Sucrose presented decreased energy intake from chow compared to all other groups. After the 12th week there was a progressive normalization in caloric intake between groups especially after the 13th week and an equivalence in weight gain was seen in all groups after the end of the 17th week. **Experiment 2:** Cumulative weight gain was significantly increased in Saccharin vs. C1 ( $p=0.0178$ ) and in Saccharin vs. Sucrose ( $p=0.0010$ ). The evolution of weight gain along 12 weeks through analysis of mixed models was also significant, indicating higher weight gain in Saccharin than in Sucrose groups ( $p=0.035$ ) but not in relation to C2. Total caloric intake corrected by the final weight and total caloric intake from chow intake corrected by the final weight in 12 weeks were also higher in Saccharin group vs. C1 ( $p=0.0005$ ) and vs. Sucrose ( $p=0.0115$ ) groups, but was similar to C2. Saccharin group also presented greater consumption of chow than C1 ( $p=0.0050$ ) and Sucrose ( $p=0.0001$ ). Sucrose group presented less weight gain than Saccharin and a trend to lower weight gain in relation to C2 groups and was similar to C1. Total caloric intake between Sucrose and C1 groups was similar. However, Sucrose group presented decreased consumption of chow in relation to all groups ( $p<0.01$ ).

**Conclusion:** The results indicate that supplementation with saccharin has a neutral effect in weight gain, being the impact of increased weight gain above controls due to yogurt calories consumption. However, supplementation with Sucrose promotes less weight gain than saccharin, similar to controls due to a compensatory decrease in chow intake. These effects are reversible after 17th weeks. Thus sucrose but not saccharin seem to have a regulatory energy intake mechanism. Further studies are necessary for deepening on the mechanisms.

**Descriptors:** Saccharin, sucrose, sweeteners, food intake, energetic balance, obesity.



## Introduction

In the last 30 years, the incidence of obesity has increased dramatically worldwide. Beyond the changes in food habits associated to the current course of obesity is the large-scale introduction of non-caloric sweeteners, such as saccharin. These substances are commonly found in a variety of low-calorie foods with a dramatic increase especially in its consumption of soft drinks (Swithers, Martin and Davidson, 2010; Swithers, Baker and Davidson, 2009; Mattes and Popkin, 2009; Swithers and Davidson, 2008; Duffy and Sigman-Grant, 2004; The Freedonia Group, 2001; Schiweck, 1999).

An increase in the ingestion of non-caloric substitutes to sugar is especulated to promote an increase in food intake and body weight gain as well. A variety of differences in the index of body mass, appetite and standard food consumption were reported in consumers of drinks artificially sweetened (Appleton and Blundell, 2007), and recent prospective studies have suggested a link between individuals who consume foods (such as diet soft drinks) manufactured with sweeteners with high intensity and an increase of obesity risk, metabolic syndrome, and elevated blood pressure (Swithers, Martin and Davidson, 2010; Nettleton et al., 2009; Fowler et al., 2008; Lutsey, Steffen and Stevens, 2008; Dhingra et al., 2007; Liebman et al., 2006).

Recently, the hypothesis that hypothalamic capacity in recognizing a sweet flavor as the predictor of food caloric value may be vital for controlling satiety and body weight has emerged from animal studies (Swithers, Baker and Davidson, 2009; Swithers and Davidsons, 2008). The presence of a non-caloric substance, although having a sweet flavor, such as saccharin, could interfere in the capacity of satiety in the hypothalamus of these animals, promoting an excessive ingestion of food. Swithers and Davidsons (2008) evaluated the ability of rats in regulating their food

intake and body weight through saccharin intake in comparison with glucose intake. In relation to the rats that utilize glucose, rats exposed to saccharine presented greater chow intake, greater weight increase and adiposity as well as a decrease in the central body temperature. This effect was attributed to interferences by saccharin in the mechanism of satiety. The present study proposes to test the protocol utilized by Swithers and Davidson (2008), replacing glucose by sucrose, in order to answer the issue if it is saccharin that promotes weight gain by increasing appetite or sucrose that leads to satiety and less weight gain.

## **Experiment 1**

### **Methods**

**Experimental Design and Groups:** We conducted a pilot experiment during 12 weeks of intervention phase followed by 9 weeks of non-interventional phase in 16 male Wistar rats weighting 200-300g at the beginning of the experiment.

The rats were individually housed in acrylic boxes with standard lab chow (Nuvilab CR-1) and water ad lib. The room of colonization was maintained in a cycle of 12-to12 hours light/dark with the lights turned on at 7:00. The dietetic supplements, chow and water were provided approximately at 08:00 a.m. and 6:00 p.m. daily. The temperature was maintained around 21-23°C.

The animals were randomly divided into one of the four experimental groups: C1 (free chow-only, n=4), C2 (free chow plus 30mL/day of pure yogurt, n=4), Sucrose (free chow plus 30mL/day of yogurt with sucrose 20%, n=4) and Saccharin (free chow plus 30mL/day of yogurt with saccharin 0.3%, n=4), and water ad lib.

**Protocol:** During the 12 weeks of treatment C2, Saccharin and Sucrose groups received 30g of natural yogurt daily, during 5 days per week plus water and

free chow ad lib. In 1 day a week, all animals received only non-supplemented yogurt beyond chow and water ad lib. On the 6th and 7th days of the week, only chow and water were provided (*Figure 1*).

Yogurt was served in bottles as well as the water, and it was available from 6:00 p.m. to 8:00 a.m. each next day. Control of food intake was realized through weighting the rest-intake daily and the weight of the animals were verified weekly at fasting state. Electronic precision scales were used and the researchers were blind in relation to the standardization of the weight of the animals.

Rats from the Sucrose group received natural yogurt supplemented with 20% of sucrose (~1.25kcal/g) in 4 of 5 days of the week and in 1 day they received non-sweetened yogurt (~0.5 kcal/g). Rats from the group C2 received supplementation only with natural yogurt during 5 days of the week. While rats from the Saccharin group received yogurt with 0.3% of saccharin in 4 days and received non-sweetened natural yogurt in 1 out of 5 days in each week (*Figure 1*). On each week of tests, the Sucrose group received approximately 150kcal per week through supplementation with yogurt, while C2 and Saccharin groups received a total of approximately 60kcal per week through supplementation with yogurt.

After 12 weeks of test, these animals remained for further 9 weeks with chow only and water ad lib in order to observe the eventual reversibility of increase in weight gain and energetic consumption. Animal that ingested less than 90% of the provided yogurt were excluded.

**Variables:** The main outcomes evaluated in this study were: 1) The cumulative weight gain along 21 weeks; 2) Total cumulative caloric intake corrected by week rat weight along 21 weeks and 3) The total cumulative chow intake corrected by the weekly weight along 21 weeks.

**Statistical Analysis:** The Staviw was utilized for ANOVA with the complementary Fisher's test ( $p < 0.05$ ).

## Results

**Weight Gain:** The cumulative weight gain along the first 12 weeks demonstrated that the Saccharin group presented greater weight gain in relation to Sucrose and C1 (chow only) groups (*Figure 2*). After the end of the intervention at 12 weeks, there was attenuation of weight gain of all groups and a trend for disappear the difference between Saccharin and Sucrose groups, after the 17th week (*Figure 2*). Weight gain became similar in all groups after the intervention phase, by the 15<sup>th</sup> week.

**Caloric Intake:** Saccharin and C2 group presented similar total cumulative caloric intake (corrected by week rat weight) that was greater in relation to Sucrose and C1 groups (*Figure 3*). Sucrose and C1 groups presented similar total caloric intake. The total cumulative chow intake along 12 weeks was lower in Sucrose group, in relation to all other groups (*Figure 4*). Saccharin and C2 groups did not present any difference in caloric or chow intake. Total caloric intake and total chow intake were similar in all groups after the end of intervention phase by the 17th week.

## Experiment 2

### Methods

**Experimental Design and Groups:** During the 12 weeks of treatment 40 Wistar male rats, weighing on average 200-300g were included in the study. Ambient conditions were similar as in experiment 1.

Animals were randomly divided into 4 experimental groups, exactly as in experiment 1: (see above) C1 n=10, C2 n=10, Saccharin n=10 and Sucrose n=10. The main differences from experiment 1 were: The absence of washout-phase, absence of observational phase, ending the study at 12 weeks, and an increased number of rats per group. After the end of the study, rats were sacrificed through decapitation and tissue from central nervous system collected for further studies. Blood from the trunk was collected and centrifuged for separating plasma and serum and they were stored at -80 °C for determination of corticosterone concentration. The serum free corticosterone concentration was determined through radio-immuno-assay (RIE), Corticosterone DA 1251, MP Biomedical, which was utilized.

**Protocol:** During 12 weeks of treatment, rats received the same treatment as in Experiment 1. In this experiment, the washout-phase was not performed and no extension of the nine weeks to see the effect of reversibility of weight and energy consumption. Due to the exclusion of rats that did not consume at least 70% of yogurt, the group C2 had 9 rats, and the other groups contained 10 animals.

**Variables:** The variables evaluated in this study were: 1) The difference in final-initial weight; 2) The cumulative weight gain along 12 weeks; 3) The evolution of weight gain along 12 weeks; 4) The cumulative total caloric intake; 5) The cumulative total caloric intake corrected by the mean weight; 6) The cumulative total caloric intake corrected by the final weight; 7) The cumulative total caloric intake corrected by the weekly weight along 12 weeks; 8) The cumulative total caloric intake from chow; 9) The cumulative total caloric intake from chow corrected by the mean weight; 10) The cumulative total caloric intake from chow corrected by the final weight; 11) The cumulative caloric intake from chow corrected by the weekly weight along 12 weeks; 12) The cumulative caloric intake from yogurt; 13) The cumulative

total caloric intake from yogurt corrected by the mean rat weight and 14) cumulative total caloric intake from yogurt corrected by the final rat weight.

**Statistical Analysis:** The Statview program version 2.0 was utilized for the ANOVA with the complementary Fisher's test ( $p < 0.05$ ), and for the analysis of mixed models, SPSS software version 18.0 was utilized.

## Results

**Weight Gain:** At baseline weight among groups was not statistically significant (Table 1). The weight gain (final-initial) was significant higher in Saccharin vs. C1 ( $p = 0.0178$ ) groups and in Saccharin vs. Sucrose groups ( $p = 0.0010$ ). There was a trend in sucrose group to a decrease weight gain in relation to C2 group ( $p = 0.078$ ) (Table 1). The cumulative weight gain along 12 weeks, in the Saccharin group was greater in relation to Sucrose and to C1 groups after the 8th week (*Figure 5*). The evolution of total weight gain along 12 weeks through analysis of mixed models, showed a significant rate of weight gain between Saccharin and Sucrose groups ( $p = 0.035$ ) thus confirming ANOVA analysis (*Figure 6*).

**Caloric Intake:** The cumulative total caloric intake corrected by the final weight was significant higher in Saccharin vs. C1 ( $p = 0.0105$ ) and Sucrose vs. C2 ( $p = 0.0051$ ) (Table 1). The cumulative total caloric intake corrected by the mean weight was significant between Saccharin vs. Sucrose ( $p = 0.0019$ ), Sucrose vs. C1 ( $p = 0.0023$ ) and Sucrose vs. C2 ( $p < 0.0001$ ) (Table 1). The total cumulative calories intake corrected by the weekly weight along 12 week was significant between groups Saccharin and C2 Vs Sucrose group, between C1 Vs Saccharin and C2 groups (*Figure 7*). Total cumulative caloric intake was similar between Sucrose and C1 groups (*Figure 7*). Total chow energy intake was significant higher in Saccharin vs.

Sucrose ( $p=0.0450$ ) and Sucrose vs. C1 ( $p=0.0057$ ) (Table 1). The cumulative chow caloric intake was decreased in Sucrose vs. C1 ( $p=0.0001$ ) and in Sucrose vs. C2 ( $p<0.0001$ ) (Table 1). The cumulative caloric intake from chow corrected by the final weight was significant increased Saccharin vs. C1 ( $p=0.0006$ ), in Saccharin vs. Sucrose ( $p=0.0045$ ), and was decreased in Sucrose vs. C1 ( $p=0.0001$ ) and in Sucrose vs. C2 ( $p<0.0001$ ) (Table 1).

The cumulative chow intake corrected by the weekly weight along 12 weeks was similar in Saccharin, C1 and C2 and all were greater than Sucrose group (*Figure 8*). The *Figure 9* demonstrated the consumption of total caloric intake corrected by the final weight and caloric chow intake corrected by the final weight in 12 weeks, In this analysis Saccharin group presented greater consumption of total calories between C1 ( $p=0.0005$ ) and Sucrose ( $p=0.0115$ ) groups. The C2 group demonstrated greater consumption of total calories vs. C1 ( $p=0.0003$ ) and vs. Sucrose ( $p=0.0008$ ) groups. The Saccharin group presented greater consumption of chow between Sucrose ( $p=0.0001$ ) and C1 ( $p=0.0050$ ) groups, and the Sucrose group presented greater consumption of chow between C1 ( $p=0.001$ ) and C2 ( $p=0.001$ ) group. The total caloric intake from yogurt was significant between Saccharin vs. Sucrose ( $p=0.001$ ) and Sucrose vs. C2 ( $p=0.001$ ) (Table 1). The cumulative total caloric intake from yogurt corrected by the mean weight was significant between Saccharin vs. Sucrose ( $p<0.0001$ ) and Sucrose vs. C2 ( $p=0.0009$ ) (Table 1).

## **General Discussion**

The present study demonstrated that saccharin supplementation increases weight gain both in relation to Sucrose supplementation, and to those eating only chow (C1), but not in relation to rats using non-supplemented yogurt (C2), indicating

that the excess of weight gain in Saccharin group is probably related to calories from yogurt. Total caloric intake is higher in rats using Saccharin than in rats using Sucrose because the formers do not down-regulate chow intake to compensate caloric excess. As we see when total caloric intake is similar between saccharin and C2, thus indicating a neutral effect of Saccharin in weight and in energy balance.

Sucrose, on the other hand, promotes similar weight gain comparing to the chow-only control group (C1), which is the expected normal rate of weight gaining in these animals. This is less than the weight gain seen in rats using saccharin, despite eating the same amount of yogurt. In the present study, there was a trend ( $p=0.0789$ ) to a less weight gain in rats using chow with yogurt plus sucrose than in rats receiving chow plus non-supplemented yogurt, indicating that this study may not have had the power to detect a possible existing effect of sucrose in reducing weight. Indeed, in Sucrose group, despite the yogurt intake, total energy intake was similar to chow-only control group, due to a significant decrease in caloric intake from chow. Thus sucrose supplementation might be triggering a compensatory mechanism in order to maintain total caloric intake normal, an effect that is not seen with saccharin.

Interestingly, all the differences in weight gain and energy intake between groups proved to be reversible when the intervention is discontinued, after some weeks.

Swithers and Davidsons (2008) evaluated the ability of rats in regulating their food intake and body weight through saccharin intake in comparison with glucose intake. In relation to the rats that utilize glucose, rats exposed to saccharine presented greater chow intake, greater weight increase and adiposity as well as a decrease in the central body temperature. This effect was attributed to interferences by saccharin in the mechanism of satiety. This find did not reproduce in our study,



considering that, as in Experiment 1 as in Experiment 2, the Saccharin group presented the same food behavior and body weight than the group supplemented with pure yoghurt.

The neutral effect of saccharin in body weight and energetic intake seen in our study is consistent with other studies. Phelan et al., (2009), studied the use of artificial sweeteners to weight loss and control weight, and suggest that the use of artificially-sweetened may be an important weight control strategy. According to Mattes and Popkin's finding (2009), most of the proposed mechanisms for weight gain and energy intake attributed to non-caloric artificial sweeteners are not supported by the available evidence (de la Hunty, Gibson and Ashwell, 2006; Mitchell and Flaherty, 2005; Raben et al., 2002; Poothullil, 2002; Blackburn et al., 1997; Tordoff and Alleva, 1990; Porikos, Hesser and van Itallie, 1982).

In our study, the volume of yogurt ingested in all groups and the conditions of access to yogurt were equivalent for all groups. Thus, as the sweet flavor of yogurt either sweetened with sucrose or saccharin, were also equivalent, the differences of palatability between the yogurts sweetened with sucrose or saccharin may not explain the observed differences. In addition, as the quantity consumed of yogurt between the groups was similar, an increase of ingested calories was due to the consumption of yogurt sweetened with sucrose, than by the consumption of yogurt sweetened with saccharin. Nevertheless, instead of presenting smaller weight gain, the rats from the Saccharin group that ingested yogurt with fewer calories in relation to the Sucrose group, gained much weight than the rats that ingested yogurt sweetened with sucrose.

However, our finding demonstrates that sucrose can promote in rats a self regulation of energy intake, which was not observed in the group

receiving saccharin as a supplement. Due to the fact that we used sucrose instead of glucose, do not know if this satiating effect is due to glucose or fructose that composes the sucrose. Studies comparing the two tend to be small and short term and with conflicting results regarding satiety. Glucose and fructose are absorbed and metabolized differently and may act in different pathways of satiety (Anderson and Woodend, 2003; Anderson, 1995).

There is a considerable consensus that insulin is an important short- and long-term regulator of food intake and energy balance. That is, circulating insulin aids in modulating the short-term signaling of satiety and the long-term levels of adipose stores in the body in any particular environment (Havel, 2001). Considering the sources of digestible carbohydrates, glucose is the most powerful stimulator of insulin secretion and independent of other fuels while it can potentiate other stimuli (Newgard and McGarry, 1995). By contrast, the digestible carbohydrate, fructose, does not stimulate insulin secretion. The satiating effect of carbohydrates appears to be caused by changes in blood glucose, changes in liver metabolism, end products of carbohydrate metabolism, and secretion of satiety hormones like insulin, GLP-1 and amylin (Feinle, O'Donovan and Horowitz, 2002).

Feinle, O'Donovan and Horowitz, (2002) has in a review reported studies in which fructose decreased food intake at a subsequent meal (after about 2 hours) more than glucose. Elliott et al., (2002) propose in their review, that a high and prolonged intake of fructose can cause overweight. This can be caused by no insulin secretion after fructose ingestion. As insulin partially regulates leptin production and has an independent satiety increasing effect in the brain, high intake of fructose can increase eating and promote weight gain (Havel, 2001). Intake of sucrose has in some studies decreased energy intake at the following meal (Lavin et al., 1997;

Woodend and Anderson, 2001). It appears that the energy of sucrose is compensated by reduced intake of energy from other sources.

According to our findings about the sucrose, studies have demonstrated that sucrose may operate as a biomarker of satiety, functioning as an important factor in regulating the energetic intake, mainly due to its metabolic regulation, limited storage and fundamental substrate as a source of energy for the central nervous system, suggesting that acute changes in the concentrations of plasmatic glucose are associated with reciprocal variations in the sensations of appetite and ingestion of foods (Mitchell and Flaherty, 2005; De Graaf et al., 2004; Poothullil, 2002; Andrews et al., 1998; Raben et al., 1996; Mayer, 1955; Mayer, 1953).

Sucrose intake, in some studies, diminished the energy consumption in the following meal (Woodend and Anderson, 2001; Lavin, French and Read, 1997). It seems that sucrose energy is compensated by the reduction of energy intake coming from other sources (Salmenkallio-Marttila M et al., 2009).

The carbohydrates intake stimulates the secretion of a series of gastrointestinal hormones, as the amylin (van Hulst et al., 1996; Mitsukawa et al., 1990), incretins, glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) (Burcelin 2005; Schirra et al., 1996) and insulin (Lavin et al., 1998). All these hormones have demonstrated satiety signals (Verdich et al., 2001a; Verdich et al., 2001b; Flint et al., 2000; Turton et al., 1996; Tempel and Leibowitz, 1994), with the exception of GIP (Strader and Woods, 2005).

Our findings and theoretical underlying are approximate to an agreement that the energetic value of the carbohydrate of foods may be considered the most important component to the efficiency of satiety (Salmenkallio-Marttila M et al., 2009; Mattes and Popkin, 2009; Rosado and Monteiro, 2001; Rolls, Bell and Thorwart,

1999; Drenowski, 1998; Blundell and Green, 1996; Poppitt and Prentice, 1996; Prentice and Poppitt, 1996).

Our results were obtained under the highest controlled conditions occurring in animal experimentation studies. The generalization of the obtained findings with rats in laboratory for human beings, in a much more complex food environment, may and must be questioned. However, it is conceivable that with the current panorama of world obesity, the normal ability of human beings in controlling their ingestion and body weight through a sweet flavor or energetic density is being degraded with the introduction of non-caloric or with very low-caloric sweeteners in large scale as a substitution for sugar in food daily habits, being able to have effects in the normal ability of human beings in controlling their ingestion and body weight.

In conclusion, the results of the present study suggest that saccharin has a neutral effect in rat weight gain, but rats using saccharin are unable to regulate food intake in a compensatory manner, gaining more weight than when supplemented by sucrose. On the other hand, sucrose supplementation promotes normal weight gain along the normal rat development, potentially due to a down-regulation of calories from chow intake possibly by leading to satiating effects.

## References

Anderson GH. Sugars, sweetness and food intake. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62:195-202, 1995.

Anderson GH, Woodend D. Consumption of sugars and the regulation of short-term energy intake. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78:843-849, 2003.

Andrews JM, Rayner CK, Doran S, Hebbard GS, Horowitz M. Physiological changes in blood glucose affect appetite and pyloric motility during intraduodenal lipid infusion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 275(4):G797-G804, 1998.

Appleton KM e Blundell JE. Habitual high and low consumers of artificially-sweetened beverages: Effects of sweet taste and energy on short-term appetite. *Physiology and Behavior*, 92:479-486, 2007.

Blackburn GL, Kanders BS, Lavin PT, Keller SD, Whatley J. The effect of aspartame as part of a multidisciplinary weight-control program on short- and long-term control of body weight. *Am J Clin Nutr*, 65(2):409-418, 1997.

Blundell JE, Green SM. Effects of sucrose and sweeteners on appetite and energy intake. *International Journal of Obesity*, 20(2):12S-17S, 1996. Supplement.

Burcelin R. The incretins: a link between nutrients and well-being. *British Journal of Nutrition*, 93(1):S147-S156, 2005.

Davidson TL, Swithers SE. A Pavlovian approach to the problem of obesity. *International Journal of Obesity*, 28:933-935, 2004.

Davidson TL, Swithers SE. Food viscosity influences caloric intake compensation and body weight in rats. *Obesity Research*, 13:537-544, 2005.

De Graaf C, Blom WA, Smeets PA.; Stafleu A, Hendriks HF. Biomarkers of satiation and satiety. *Am J Clin Nutr*, 79:946-61, 2004.

Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF, et al. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation*, 116:480-488, 2007.

Dietz WH. Sugar-sweetened beverages, milk intake, and obesity in children and adolescents. *Editorial J Pediatr*, 148:152-154, 2006.

Drewnowski A. Energy density, palatability, and satiety: implications for weight control. *Nutrition Reviews*, 56:347-353, 1998.

Duffy VB, Sigman-Grant M. Position of the American Dietetic Association: Use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *Journal of the American Dietetic Association*, 104: 255-275, 2004.

Feinle C, O'Donovan D, Horowitz M. Carbohydrate and satiety. *Nutrition Reviews*, 60: 155-169, 2002.

Flint A, Raben A, Blundell JE e Astrup A. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. *Int. J. Obes*, 24:38-48, 2000.

Fowler SP, Williams K, Resendez RG, Hunt KJ, Hazuda HP e Stern MP. Fueling the obesity epidemic? Artificially sweetened beverage use and long-term weight gain. *Obesity (Silver Spring)*, 16:1894-1900, 2008.

Havel PJ. Peripheral signals conveying metabolic information to the brain: short-term and long-term regulation of food intake and energy homeostasis. *Exp. Biol. Med.* 226: 963-977, 2001.

Lavin JH, French SJ e Read NW. The effect of sucrose- and aspartamesweetened drinks on energy intake, hunger and food choice of female, moderately restrained eaters. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 21:37-42, 1997.

Lavin JH, Wittert G, Andrews J, et al. Interaction of insulin, glucagon-like peptide 1, gastric inhibitory polypeptide, and appetite in response to intraduodenal carbohydrate. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68:591-598, 1998.

Liebman M, Pelican S, Moore SA, et al. Dietary intake-, eating behavior-, and physical activity-related determinants of high body mass index in the 2003 Wellness in the Rockies cross-sectional study. *Nutrition Research*, 26:111-117, 2006.

Lutsey PL, Steffen LM e Stevens J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: The Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation*, 117:754-761, 2008.

Mattes RD, Popkin BM. Nonnutritive sweetener consumption in humans: effects on appetite and food intake and their putative mechanisms. *Am J Clin Nutr*, 89:1-14, 2009.

Mayer J. Regulation of energy intake and the body weight: the glucostatic theory and the lipostatic hypothesis. *Ann N Y Acad Sci*, 63:15-43, 1955.

Mayer J. Glucostatic mechanism of regulation of food intake. *N Engl J Med*, 249:13-6, 1953.

Mitchell CP, Flaherty CF. Differential effects of removing the glucose or saccharin components of a glucose-saccharin mixture in a successive negative contrast paradigm. *Physiol Behav*, 84(4):579-83, 2005.

Mitsukawa T, Takemura J, Asai J, Nakazato M, Kangawa K, Matsuo H, Matsukura S. Islet amyloid polypeptide response to glucose, insulin, and somatostatin analogue administration. *Diabetes*, 39:639-642, 1990.

Nettleton JA, Polak JF, Tracy R, Burke GL, Jacobs DR. Dietary patterns and incident cardiovascular disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Clin Nutr*, 90(3): 647-654, 2009.

Newgard BC, McGarry JD. Metabolic coupling factors in pancreatic  $\beta$ -cell signal transduction. *Annu Rev Biochem*, 64: 689-719, 1995.

Phelan S, Lang W, Jordan D, Wing RR. Use of artificial sweeteners and fat-modified foods in weight loss maintainers and always normal weight individuals. *Int J Obes*, 33(10): 1183-1190, 2009.

Poothullil JM. Role of oral sensory signals in determining meal size in lean women. *Nutrition*, 18(6):479-83, 2002.

Poppitt SD e Prentice AM. Energy density and its role in the control of food intake: evidence from metabolic and community studies. *Appetite*, 26:154-174, 1996.

Porikos KP, Hesser MF, van Itallie TB. Caloric regulation in normal-weight men maintained on a palatable diet of conventional foods. *Physiol Behav*, 29(2):293-300, 1982.

Prentice AM, Poppitt SD. Importance of energy density and macronutrients in the regulation of energy intake. *International Journal of Obesity*, 20:S18–S23, 1996.

Raben A, Holst JJ, Christensen NJ, Astrup A. Determinants of postprandial appetite sensations: macronutrient intake and glucose metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 20:161-169, 1996.

Raben A, Vasilaras TH, Moller AC, Astrup A. Sucrose compared with artificial sweeteners: different effects on ad libitum food intake and body weight after 10 wk of supplementation in overweight subjects. *Am J Clin Nutr*, 76(4):721-729, 2002.

Roberts SB. High glycemic index foods, overeating, and obesity. *Pediatrics*, 103(3): E26, 1999.

Rogers PJ. Eating habits and appetite control: a psychobiological perspective. *Proc Nutr Soc*, 58(1):59-67, 1999.

Rolls BJ, Bell EA, Thorwart ML. Water incorporated into a food but not served with a food decreases energy intake in lean women. *Am J Clin Nutr*, 70:448-455, 1999.

Rosado EL, Monteiro JBR. Obesidade e a substituição de macronutrientes da dieta. *Rev. Nutr.*, Campinas, 14(2): 145-152, 2001.

Salmenkallio-Marttila M, Due A, Gunnarsdottir I, Karhunen L, Saarela M and Lyly M. Satiety, weight management and foods - Literature review. 2009.

Schirra J, Katschinski M, Weidmann C. et al. Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans. *J Clin Invest*, 97:92-103, 1996.

- Schiweck H. From sugar to sweetener market. *Zuckerindustrie*, 124:611-615, 1999.
- Strader AD, Woods SC. Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology*, 128:175-191, 2005.
- Swithers SE, Baker CR, Davidson TL. General and Persistent Effects of High-Intensity Sweeteners on BodyWeight Gain and Caloric Compensation in Rats. *Behavioral Neuroscience*, 123(4):772-780, 2009.
- Swithers SE, Davidson TL. A role for sweet taste: Calorie predictive relations in energy regulation by rats. *Behavioral Neuroscience*, 122(1):161-173, 2008.
- Swithers SE, Martin AA, Davidson TL. High-intensity sweeteners and energy balance. *Physiology & Behavior*, 100(1):55-62, 2010.
- Tempel DL, Leibowitz SF. Adrenal steroid receptors: interactions with brain neuropeptide systems in relation to nutrient intake and metabolism. *Journal of Neuroendocrinology*, 6(5):479-501, 1994.
- The Freedonia Group. Artificial sweeteners and fat replacers. *International Sugar Journal*, 103-32, 2001.
- Tordoff MG, Alleva AM. Effect of drinking soda sweetened with aspartame or high-fructose corn syrup on food intake and body weight. *Am J Clin Nutr Jun*, 51(6):963-969, 1990.
- Turton MD, O'Shea D, Gunn I, Beak SA, Edwards CM, Meeran K, Choi SJ, Taylor GM, Heath MM, Lambert PD, Wilding JP, Smith D, Ghatei MA, Herbert J, Bloom SR. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature*, 379:69-72, 1996.
- van Hulst KL, Nieuwenhuis MG, Höppener JW, Lips CJ, Blankenstein MA. Lack of islet amyloid polypeptide/amylin-immunoreactivity in urine collected from healthy volunteers after ingestion of a carbohydrate-rich meal. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 104:177-179, 1996.
- Verdich C, Flint A, Gutzwiller JP, Naslund E, Beglinger C, Hellstrom PM, Long SJ, Morgan LM, Holst JJ, Astrup A. A meta-analysis of the effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide on ad libitum energy intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 86:4382-4389, 2001a.
- Verdich C, Toubro S, Buemann B, Lysgard MJ, Juul HJ, Astrup A. The role of postprandial releases of insulin and incretin hormones in meal-induced satiety – effect of obesity and weight reduction, 25:1206-1214, 2001b.
- Woodend DM e Anderson GH. Effect of sucrose and safflower oil preloads on short term appetite and food intake of young men. *Appetite*, 37:185-195, 2001.



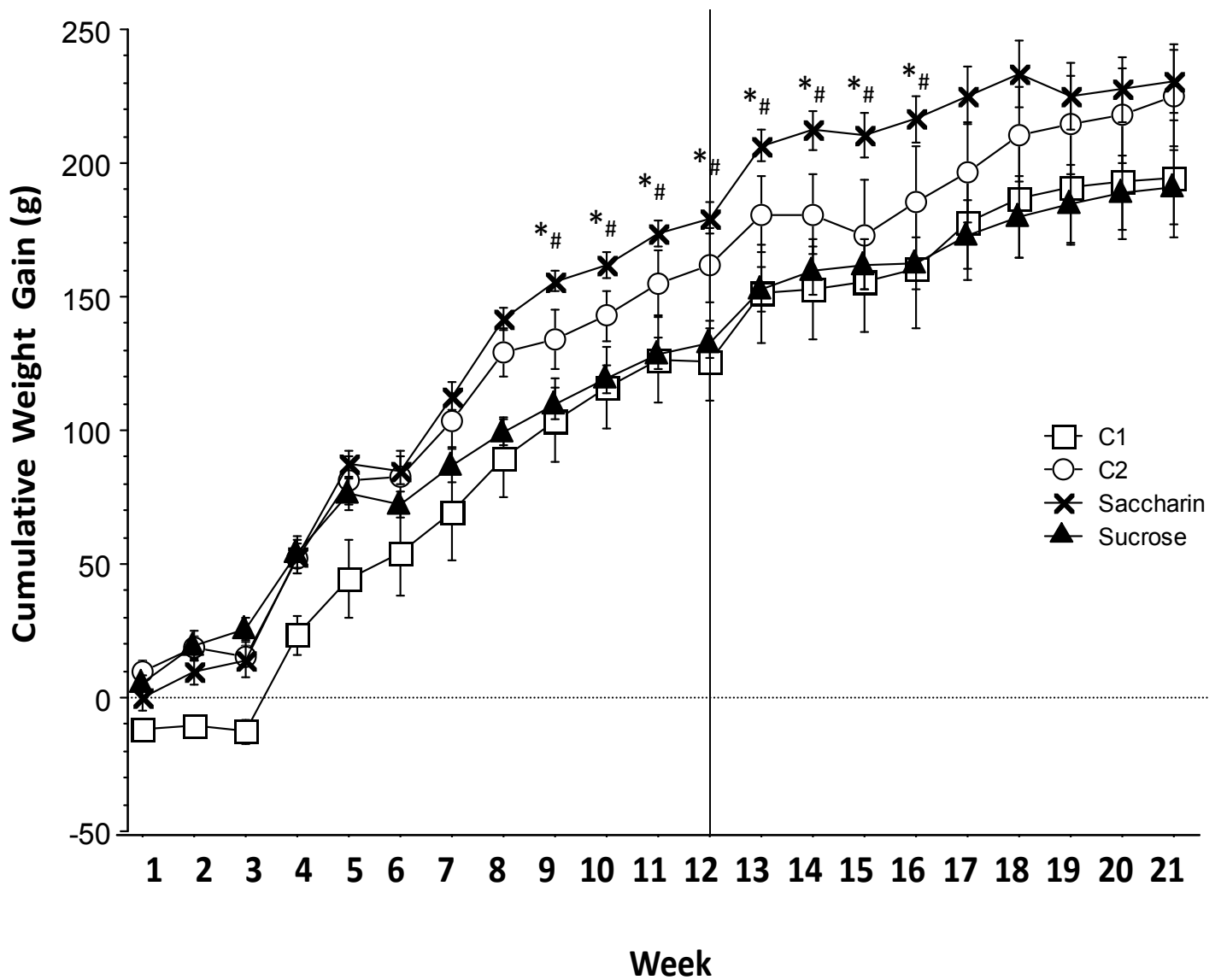
**Table 1 - Weight Gain and Energy Intake in Experiment 2.**

|   | C1<br>n=10   | C2<br>n=10   | Saccharin<br>n=10 | Sucrose<br>n=10 | P1      | P2     | P3      | P4      | P5      | P6      |
|---|--------------|--------------|-------------------|-----------------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|
| Initial Weight (g)                                      | 266.79±49.91 | 249.73±65.03 | 260.82±69.47      | 269.82±49.15    | 0.8215  | 0.6833 | 0.7340  | 0.9088  | 0.4614  | 0.5312  |
| Final Weight 12 weeks (g)                               | 415.96±69.73 | 406.65±59.21 | 436.14±67.55      | 407.18±55.75    | 0.4816  | 0.3187 | 0.3144  | 0.7589  | 0.9856  | 0.7514  |
| Weight Gain   | 149.17±28.09 | 156.92±26.79 | 175.31±20.46      | 137.37±17.43    | 0.0178  | 0.0975 | 0.0010  | 0.2692  | 0.0789  | 0.4779  |
| Total Energy Intake 12 weeks (Kcal)                     | 5850±1092    | 6424±833     | 6609±1003         | 5940±820        | 0.0819  | 0.6726 | 0.1231  | 0.8337  | 0.2739  | 0.1962  |
| Cumulative Energy Intake /Final Rat Weight (Kcal/g)     | 14.06±1.29   | 15.85±0.97   | 15.17±0.69        | 14.59±0.53      | 0.0105  | 0.1155 | 0.1668  | 0.2046  | 0.0051  | 0.002   |
| Cumulative Energy Intake/Mean Rat Weight (Kcal/g)       | 23.40±4.41   | 25.30±3.78   | 23.51±2.45        | 18.63±1.70      | 0.9403  | 0.2380 | 0.0019  | 0.0023  | <0.0001 | 0.2110  |
| Total Chow Energy Intake (Kcal)                         | 5850±1092    | 5344±801     | 5496±965          | 4647±743        | 0.3920  | 0.7195 | 0.0450  | 0.0057  | 0.1055  | 0.2361  |
| Cumulative Chow Energy Intake/Final Rat Weight (Kcal/g) | 14.06±1.29   | 13.15±0.81   | 12.58±0.66        | 11.38±0.547     | 0.0006  | 0.1628 | 0.0045  | 0.0001  | <0.0001 | 0.0309  |
| Cumulative Chow Energy Intake/Mean Rat Weight (Kcal/g)  | 23.40±4.41   | 20.96±2.85   | 19.46±1.77        | 14.53±1.39      | 0.004   | 0.2624 | 0.0005  | 0.0001  | <0.0001 | 0.0713  |
| Total Yoghurt Energy intake (kcal)                      | 0            | 1079±118     | 1113±91           | 1293±88         | <0.0001 | 0.4020 | <0.001  | <0.0001 | <0.001  | <0.0001 |
| Yoghurt Energy Intake/Final rat Weight (Kcal/g)         | 0            | 0.72±0.10    | 0.68±0.12         | 0.72±0.07       | <0.0001 | 0.4599 | <0.0001 | <0.0001 | 0.0009  | <0.0001 |
| Yoghurt Energy Intake /Mean Rat Weight (Kcal/g)         | 0            | 2.70±0.43    | 2.59±0.35         | 3.21±0.28       | 0.0692  | 0.1380 | 0.1048  | 0.0012  | 0.0034  | 0.7611  |

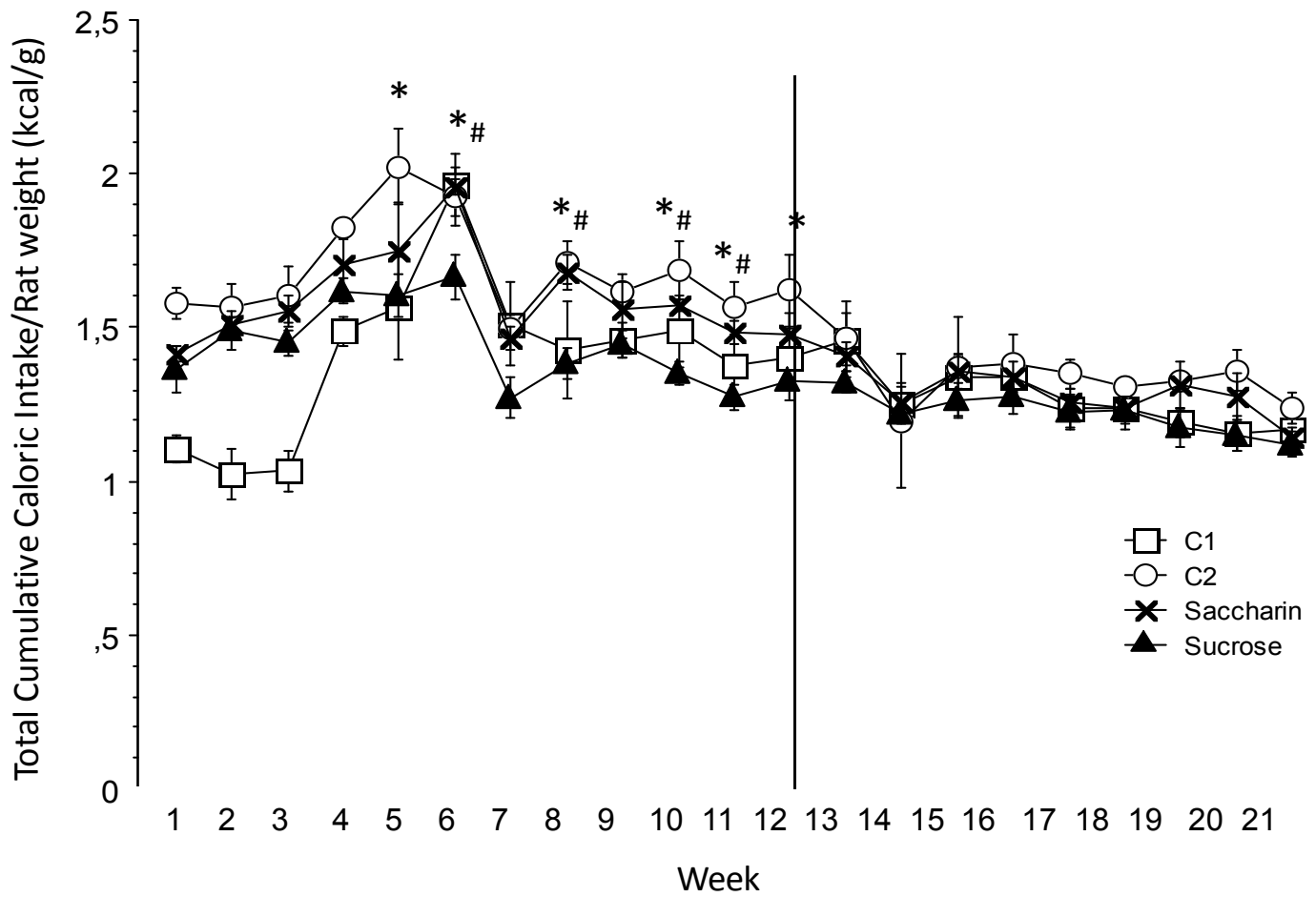
P1: Saccharin vs. C1; P2: Saccharin vs. C2; P3: Saccharin vs. Sucrose; P4: Sucrose vs. C1; P5: Sucrose vs. C2 and P6: C1 vs. C2.  
Data presented are mean±SD, p<0.05 ANOVA and Fisher.

| Experimental Groups     | Monday                           | Tuesday             | Wednesday                        | Thursday            | Friday                           | Saturday   | Sunday     |
|-------------------------|----------------------------------|---------------------|----------------------------------|---------------------|----------------------------------|------------|------------|
| <b>C1 (n=10)</b>        | Chow Water                       | Chow Water          | Chow Water                       | Chow Water          | Chow Water                       | Chow Water | Chow Water |
| <b>C2 (n=10)</b>        | Yogurt + Chow Water              | Yogurt + Chow Water | Yogurt + Chow Water              | Yogurt + Chow Water | Yogurt + Chow Water              | Chow Water | Chow Water |
| <b>Sucrose (n=10)</b>   | Yogurt + Sucrose* + Chow Water   | Yogurt + Chow Water | Yogurt + Sucrose* + Chow Water   | Yogurt + Chow Water | Yogurt + Sucrose* + Chow Water   | Chow Water | Chow Water |
| <b>Saccharin (n=10)</b> | Yogurt + Saccharin* + Chow Water | Yogurt + Chow Water | Yogurt + Saccharin* + Chow Water | Yogurt + Chow Water | Yogurt + Saccharin* + Chow Water | Chow Water | Chow Water |

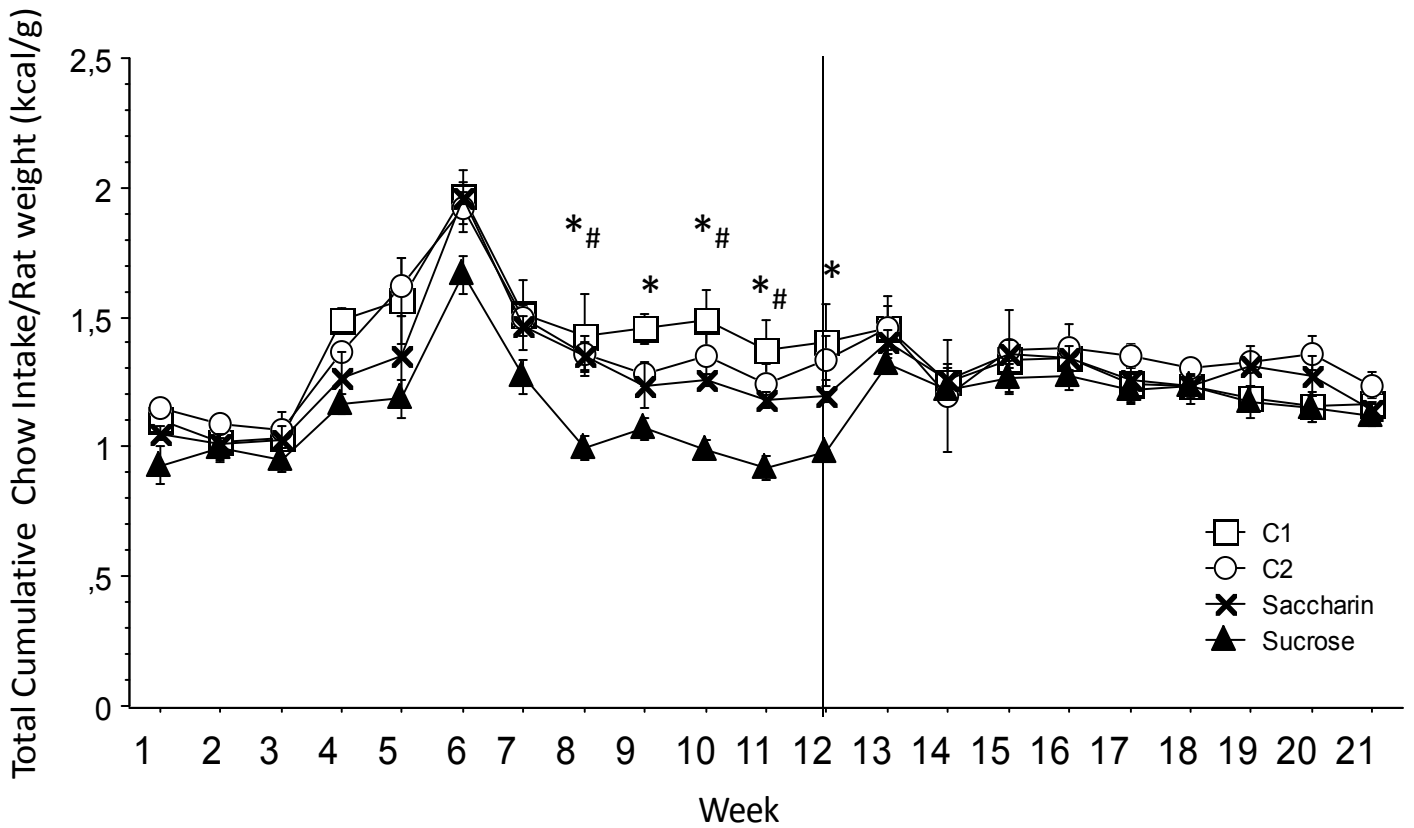
**Figure 1 (Experiment 1)** - Outline of the diet protocol of the groups. (\*) The order of presentation of sweetened diet or not will be random each week.



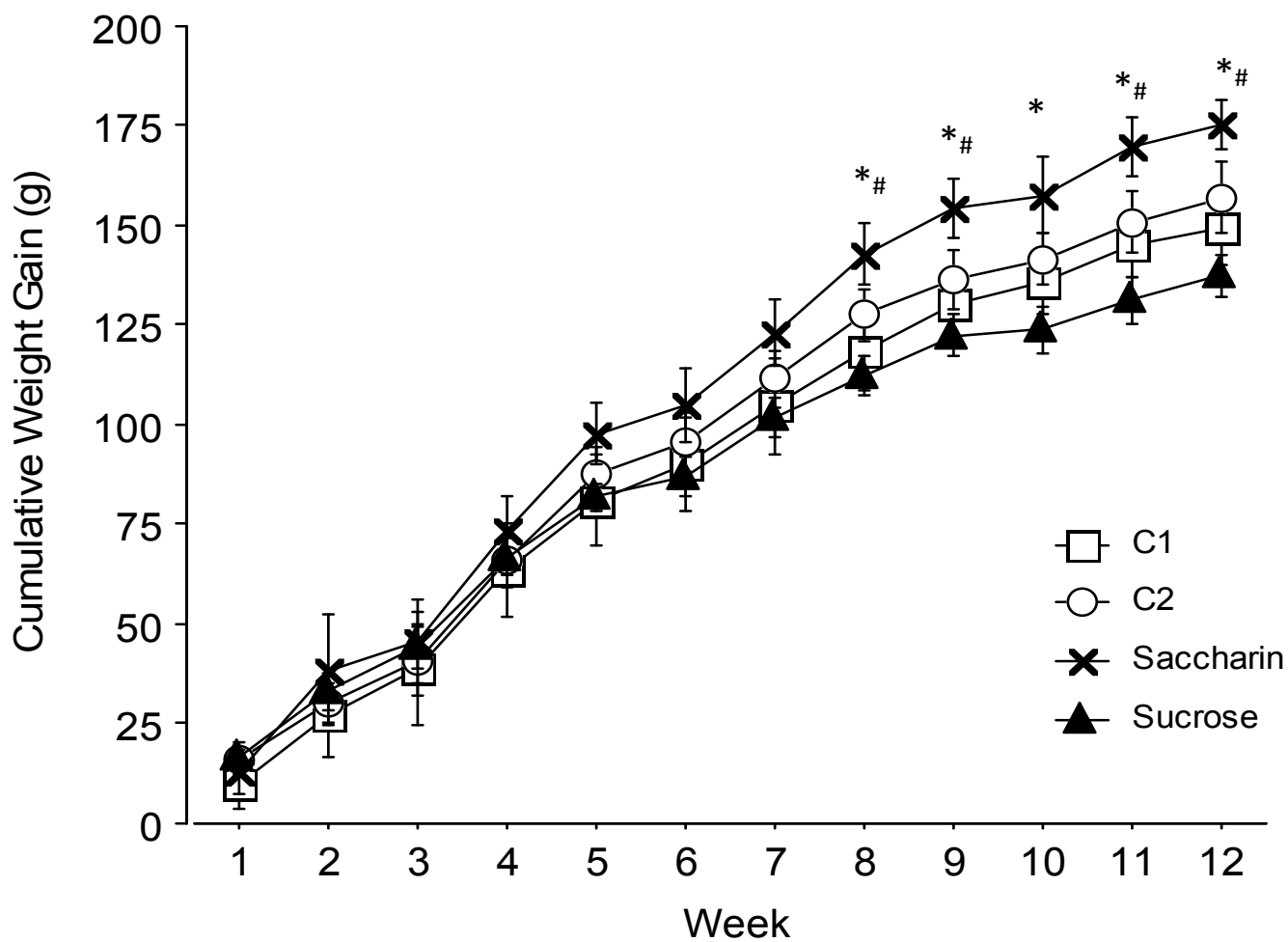
**Figure 2 (Experiment 1)** - Cumulative weight gain along 21 weeks. Weeks 6 and 7 represent the washout period. Weeks 13 to 21 were offered only chow and water ad lib. The dark vertical bar represents the end of intervention. The errors bars represent the standard error. ( \* )  $p < 0.05$  between groups C1 vs. Saccharin and ( # )  $p < 0.05$  between groups Saccharin vs. Sucrose.



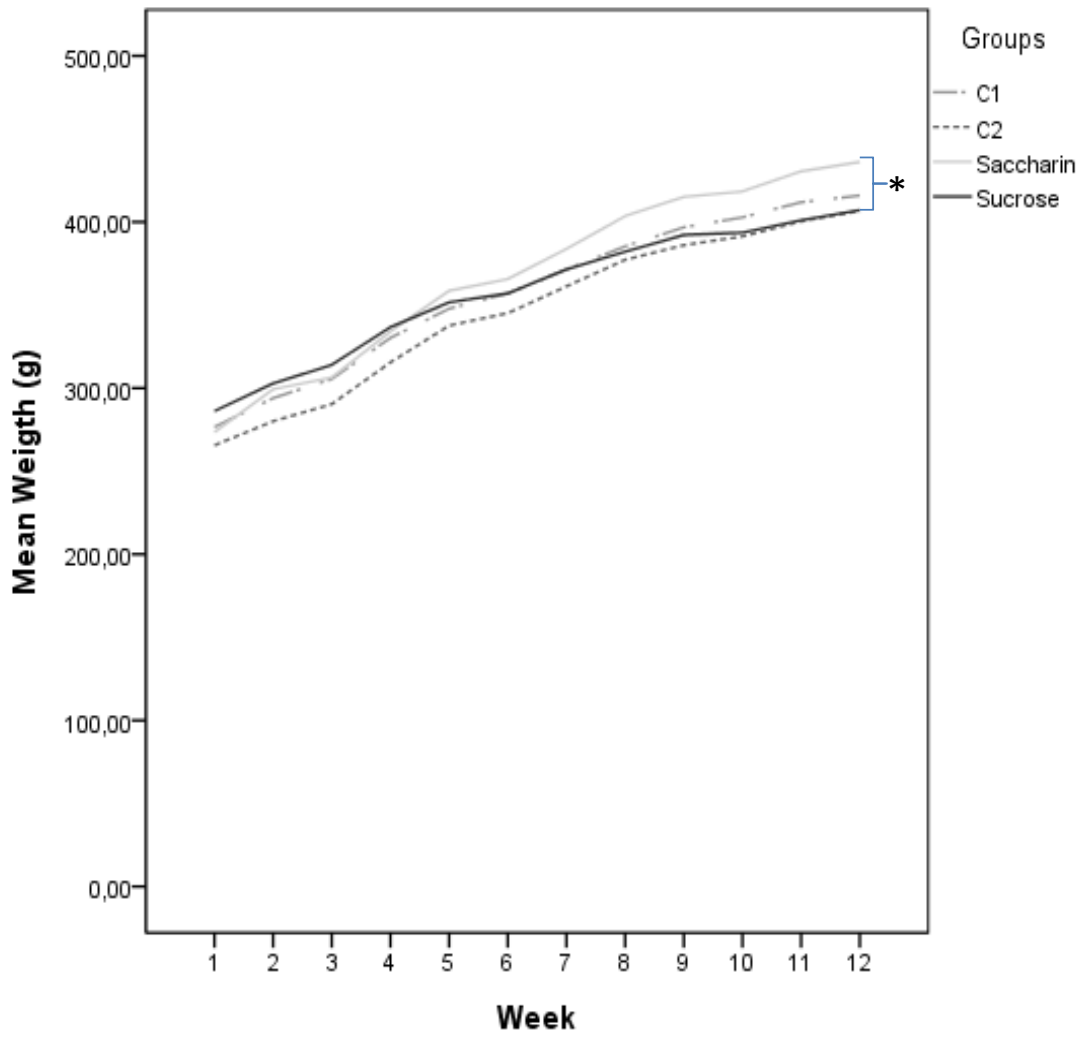
**Figure 3 (Experiment 1)** - Total cumulative caloric intake corrected by weekly rat weight along 21 weeks. Weeks 6 and 7 represent the washout period. Weeks 13 to 21 were offered only chow and water ad lib. The vertical bar corresponds to the end of intervention. Error bars represent standard error. ( \* )  $p < 0.05$  between groups C2 vs. Sucrose, ( # )  $p < 0.05$  between groups Saccharin vs. Sucrose.



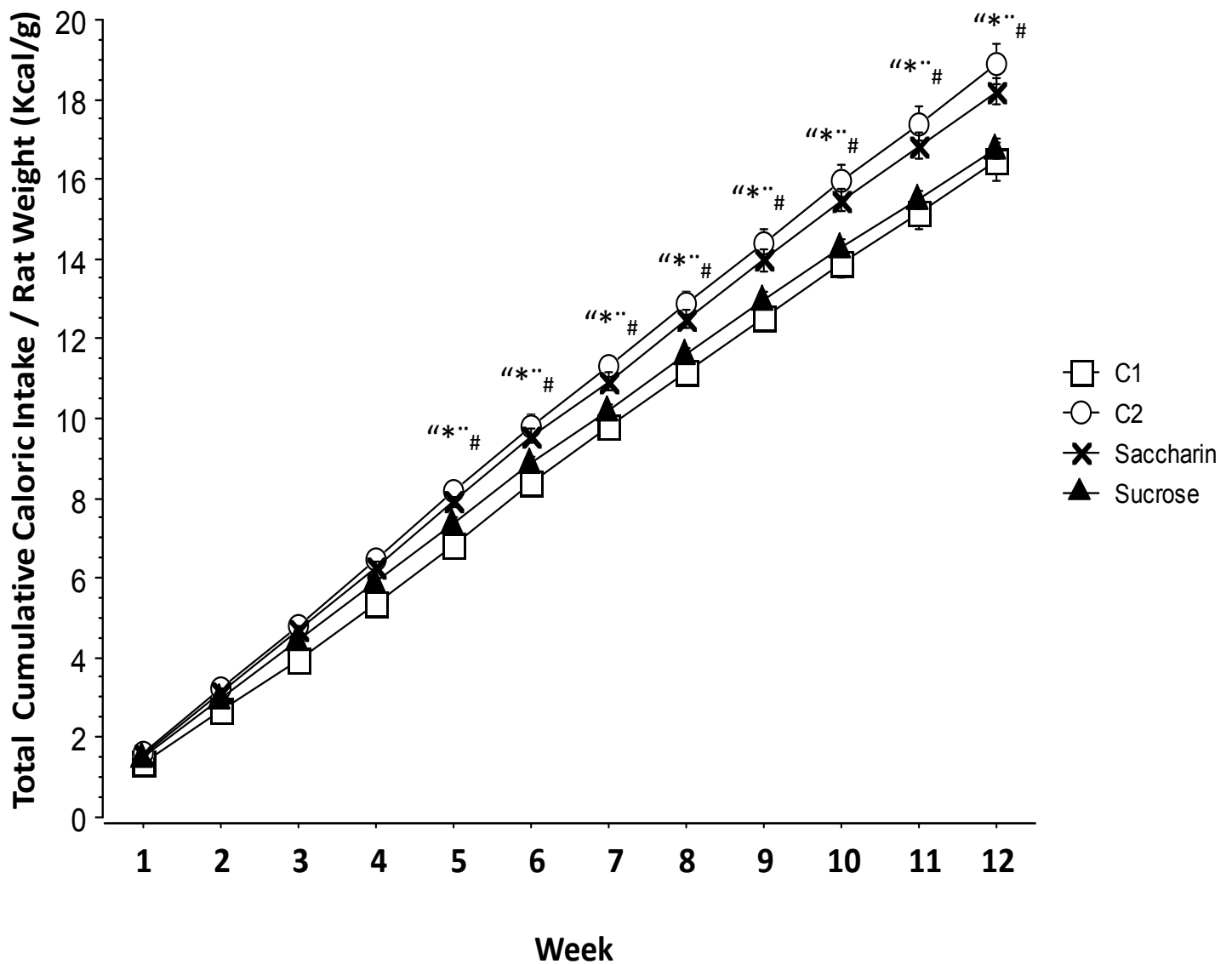
**Figure 4 (Experiment 1)** – Total cumulative chow intake corrected by the weekly rat weight along 21 weeks. Weeks 6 and 7 represent the washout period. Weeks 13 to 21 were offered only chow and water ad lib. The vertical bar corresponds to the end of intervention. Error bars represent standard error. (\*)  $p < 0.05$  between groups C2 vs. Sucrose and (#)  $p < 0.05$  between groups Saccharin vs. Sucrose.



**Figure 5 (Experiment 2)** - Cumulative weight gain along 12 weeks. Error bars represent standard error. ( \* )  $p < 0.05$  between C1 vs. Saccharin groups and ( # )  $p < 0.05$  between Saccharin vs. Sucrose groups.

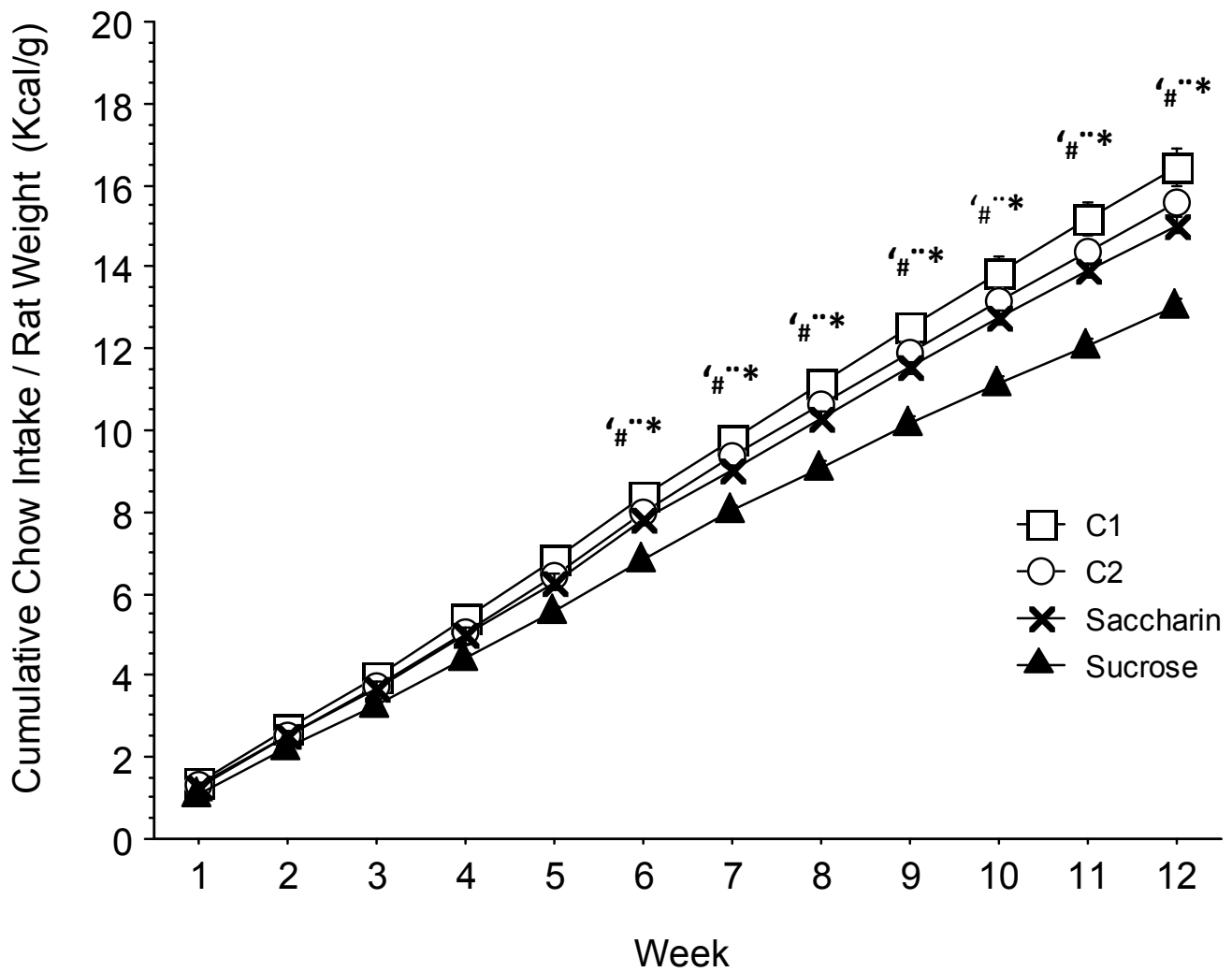


**Figure 6 (Experiment 2)** - Evolution of weight gain along 12 weeks, analysis of mixed model. ( \* ) Saccharin vs. Sucrose (p=0.035).

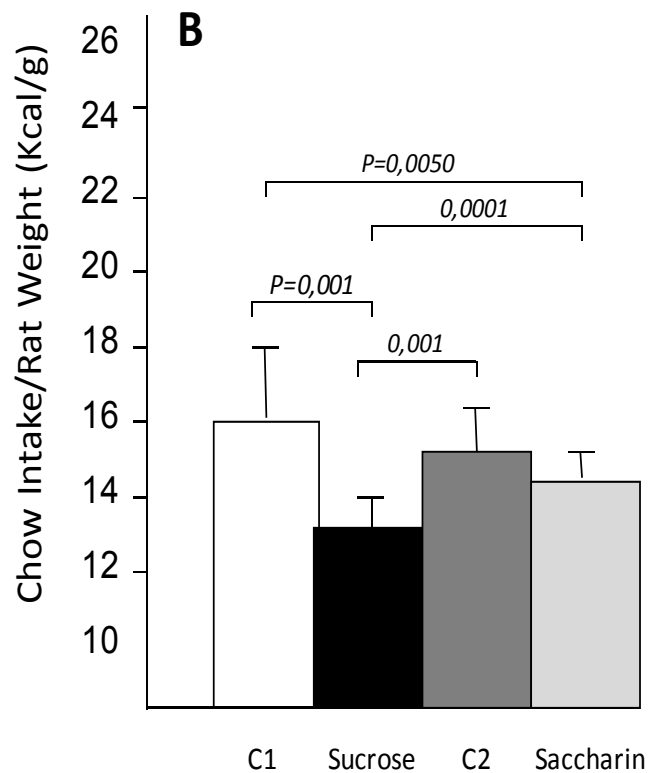
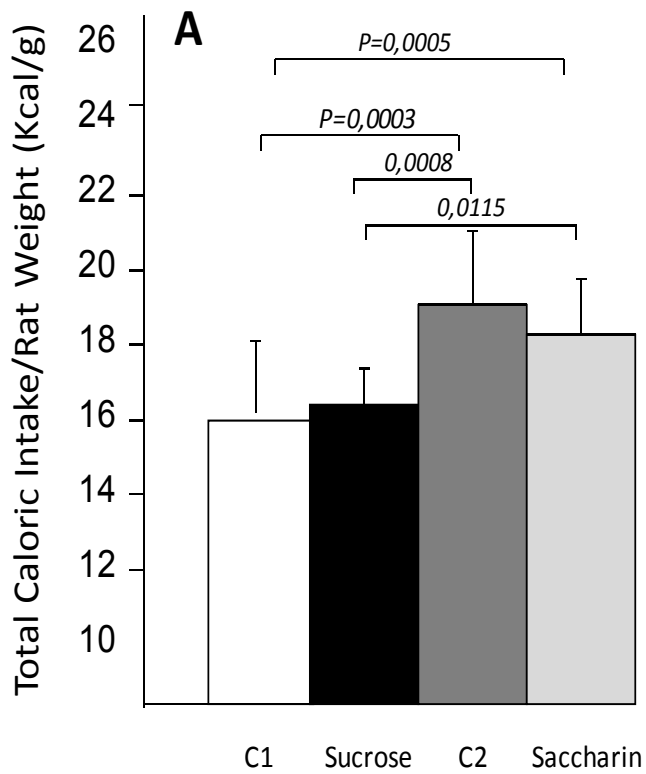


**Figure 7 (Experiment 2)** - Total cumulative caloric intake corrected by the weekly weight along 12 weeks. The bars of error represent the standard error. ( “ )  $p < 0.05$  between groups C1 vs. C2; ( \* )  $p < 0.05$  between groups C1 vs. Saccharin; ( " )  $p < 0.05$  between groups C2 vs. Sucrose and ( # )  $p < 0.05$  between groups Saccharin vs. Sucrose.





**Figure 8 (Experiment 2)** - Cumulative chow intake corrected by the weekly weight along 12 weeks. The bars of error represent the standard error. ( ' )  $p < 0.05$  between groups C1 vs. Sucrose; ( # )  $p < 0.05$  between groups Saccharin vs. Sucrose; ( " )  $p < 0.05$  between groups C2 vs. Sucrose and ( \* )  $p < 0.05$  between groups C1 vs. Saccharin.



**Figure 9 (Experiment 2)** - Total caloric intake corrected by the final weight (A), caloric chow intake corrected by the final weight (B) in 12 weeks.

---

## ***CONSIDERAÇÕES GERAIS***

---

## CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os resultados do Experimento 1 e 2 demonstram que os ratos que recebiam sacarina como suplemento ingeriram mais calorias e ganharam mais peso que o grupo Sacarose e controle ração, vimos também que este efeito é reversível com a descontinuidade da intervenção, porém, o grupo Sacarina teve o mesmo comportamento que o grupo suplementado com iogurte sem suplemento, ou seja, não foi significativa a diferença no consumo e no peso entre eles. O grupo Sacarose surpreendentemente apresentou um comportamento semelhante ao grupo controle ração, sugerindo haver maior saciedade induzida pela sacarose.

Em ambos os experimentos, o grupo que recebeu iogurte sem suplemento não apresentou diferença no peso em relação ao grupo controle ração, porém, o consumo de calorias totais foi significativamente maior no grupo que recebeu iogurte sem suplemento. A resposta poderia ser o consumo de água, que não foi avaliado em nosso estudo. Este dado foi visto em um estudo mais recente de nosso grupo de pesquisa, onde o consumo de água não foi significativo entre os grupos.

Em nosso estudo, os grupos Sacarose e C2 não apresentaram diferença no ganho de peso entre eles, porém o grupo C2 apresentou maior consumo de calorias totais e calorias referentes ao consumo de ração em relação ao grupo de Sacarose. Talvez esse resultado não tenha sido encontrado devido à falta de poder de nosso estudo, pois houve uma tendência de ganho de peso entre os grupos C2 e Sacarose ( $p=0.0789$ ). Possivelmente com um maior tamanho amostral poderíamos ter encontrado essa diferença no ganho de peso

Em nosso estudo, o volume de iogurte ingerido (não adoçado e adoçado com sacarose ou sacarina), e as condições de acesso ao iogurte foram equivalentes para

todos os grupos. Assim como o sabor doce do iogurte adoçado com sacarose ou adoçado com sacarina, também eram equivalentes. Sendo assim, diferenças de palatabilidade entre os iogurtes adoçados com sacarose ou sacarina não podem explicar as diferenças observadas. Em adição, como a quantidade consumida de iogurte entre os grupos foi similar, o aumento de calorias ingeridas se deve ao consumo do iogurte adoçado com sacarose, do que pelo consumo do iogurte adoçado com sacarina. No entanto, ao invés de exibirem menor ganho de peso, os ratos do grupo Sacarina que ingeriram o iogurte com menos calorias em relação ao grupo Sacarose, ganharam mais peso que do que os ratos que ingeriram o iogurte adoçado com sacarose.

O achado de Swithers e Davidson (2008) de que o consumo de alimentos com menos calorias leva a um maior ganho de peso do que o consumo de iguais quantidades de uma versão mais calórica do mesmo alimento não se reproduziu em nosso estudo, visto que, tanto no Experimento 1 quanto no Experimento 2 o grupo Sacarina apresentou o mesmo comportamento alimentar e no peso corporal que o grupo suplementado com iogurte puro.

Os resultados sugerem que a ingestão de sacarose pode ativar mecanismos de saciedade, enquanto a ingestão de sacarina apresentou um efeito neutro no ganho de peso e consumo energético. Futuros estudos precisam ser realizados para determinar os mecanismos envolvidos.