

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

Kelly CarraroFoletto

Efeito do uso crônico de sacarina comparado ao uso de glicose, frutose ou lipídio, na compensação calórica e no ganho de peso em ratos Wistar

Porto Alegre, 2011

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

Efeito do uso crônico de sacarina comparado ao uso de glicose, frutose ou lipídio, na compensação calórica e no ganho de peso em ratos Wistar

Kelly CarraroFoletto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Marcello Casaccia Bertoluci

Porto Alegre, 2011

CIP - Catalogação na Publicação

Foletto, Kelly Carraro

Efeito do uso crônico de sacarina comparado ao uso de glicose, frutose ou lipídio, na compensação calórica e no ganho de peso em ratos Wistar / Kelly Carraro Foletto. -- 2011.

89 f.

Orientador: Marcello Casaccia Bertoluci.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. Sacarina . 2. Ingestão Calórica. 3. Ganho de Peso. 4. Regulação do Apetite . I. Bertoluci, Marcello Casaccia , orient. II. Título.

Este estudo 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).

Dedico este trabalho a Deus,
aos meus pais Geraldo e Sônia pelo amor incondicional,
pela confiança e incentivo nas minhas escolhas,
ao meu irmão Iuri pela amizade, convívio e apoio.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) pelo qualificado ensino e incentivo à pesquisa.

Ao Programa de Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas e a seus colaboradores pela valiosa receptividade.

Ao Professor Dr. Marcello Casaccia Bertoluci, pela oportunidade de participar deste curso de pós-graduação, por acreditar nesta pesquisa, pelo constante incentivo e pela estimada orientação.

À Professora Dra. Maria Flávia Marques Ribeiro pela disponibilidade e pela fundamental contribuição prática e intelectual neste trabalho.

À Professora Dra. Signorá Peres Conrad por dedicar seu tempo e conhecimento no aprimoramento desta pesquisa.

Às colegas Cíntia Reis e Fernanda Feijó pela amizade e colaboração na concepção e execução do presente trabalho.

Às bolsistas de Iniciação Científica Bruna Aparecida Melo Batista e Alice Magagnin Neves pela dedicação constante e fundamental contribuição.

À equipe da UAMP e aos funcionários da Unidade de Experimentação Animal (UEA) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) pelo agradável convívio e receptividade nos laboratórios.

À Suzy Camey pelo qualificado suporte estatístico e à Profª Sídia Callegari Jacques pelo auxílio na escrita dos dados estatísticos.

Aos colegas e professores do mestrado, pelo convívio, pela discussão de ideias e sugestões.

Ao Igor Gorski Benedetto pelo seu amor e por sempre estar ao meu lado, apoiando-me e incentivando-me em todos os momentos.

À CAPES, FAPERGS, BIC/UFRGS e ao FIPE pelo apoio e incentivo à pesquisa.

À PIÁ[®] pelo auxílio material na fase inicial desta pesquisa.

RESUMO

Introdução: Há evidências de que o uso de adoçantes não-calóricos (ANC) pode interferir na regulação do apetite, promovendo maior ingestão alimentar, maior ganho de peso (GP) e maior adiposidade. Um estudo prévio, realizado pelo nosso grupo de pesquisa, demonstrou que o uso de sacarina ($p=0,005$) e aspartame ($p=0,048$) promoveu maior GP quando comparados ao uso sacarose. Entretanto, devido às limitações metodológicas, não foi possível afirmar se os adoçantes poderiam causar maior GP quando comparados a uma condição inerte; ou ainda, se os sub-componentes da sacarose (glicose e frutose), quando avaliados isoladamente, poderiam contribuir para o menor GP. Além disso, foi verificado que os grupos dos adoçantes compensaram o déficit calórico, ingerindo proporcionalmente mais ração, de modo que, a fração entre a ingestão calórica total e peso corporal não diferiu entre os grupos. Portanto, adicionamos no presente estudo, um terceiro macronutriente com baixo poder de saciedade e potencial indutor de maior GP, o lipídio. Deste modo, o presente estudo contempla analisar o efeito da sacarina comparando-a a condição controle, glicose, frutose e lipídio, além de avaliar o efeito entre cada um dos grupos.

Métodos: Foi realizado um experimento controlado envolvendo 40 ratos machos Wistar com peso médio inicial de 300g. Os animais foram randomizados em 5 grupos e receberam água e ração *ad libitum*, além das seguintes dietas: Controle (20ml de iogurte, 75 kcal/semana), Sacarina (0,3%, 75 kcal/semana), Glicose (20%, 139 kcal/semana), Frutose (20%, 139 kcal/semana) ou Lipídio (9%, 139 kcal/semana). As dietas foram administradas 5 dias semanais, por 14 semanas. Realizou-se diariamente o controle da ingestão alimentar e hídrica, e semanalmente o controle do peso corporal. A composição corporal foi determinada pela estimativa da massa gorda, representada pelo peso (g) do tecido adiposo marrom interescapular somado ao tecido adiposo branco (epididimal e retroperitoneal); a massa magra foi representada pela soma do músculo esquelético gastrocnêmio e músculo cardíaco, todos foram removidos imediatamente após o

sacrifício dos animais e pesados em balança de precisão milesimal. A análise dos dados foi realizada no SPSS versão 17, utilizou-se Modelo Linear Misto para as medidas longitudinais e ANOVA com teste complementar de Tukey para medidas únicas.

Resultados: Houve compensação calórica entre consumo de iogurte e de ração, de modo que a ingestão calórica total (kcal/g) não diferiu entre os grupos ($p=0,42$). Os grupos também apresentaram similaridade quanto à ingestão hídrica (ml/g) ($p=0,27$) e composição corporal ($p=0,13$). Entretanto, o uso de sacarina promoveu maior GP que o controle ($p=0,035$), sendo similar ao uso de glicose ($p=0,06$), lipídio ($p=0,76$) e frutose ($p=0,38$). Os grupos Lipídio ($p=0,016$) e Glicose ($p<0,001$) também ganharam mais peso que o controle, todavia, o grupo Frutose não diferiu deste, mas apresentou GP menor que o grupo Glicose ($p=0,006$).

Conclusão: Independentemente do tipo de suplementação, a regulação do apetite parece ser dependente do aporte calórico, sendo proporcional ao peso corporal, assim como a ingestão hídrica. O uso crônico de sacarina demonstrou promover maior GP, sendo similar ao uso de lipídio, glicose ou frutose. Já, o grupo Frutose apresentou ganho de peso intermediário, diferindo apenas do grupo Glicose. Apesar de haver diferenças quanto ao ganho de peso, a estimativa de massa magra e gorda foi semelhante entre os grupos. Estudos adicionais são necessários para elucidar outros mecanismos, que, independentemente da ingestão calórica estariam envolvidos no maior ganho de peso.

Descritores: sacarina, glicose, frutose, lipídio, ingestão calórica, ganho de peso

ABSTRACT

Introduction: There are evidences that the use of nonnutritive sweeteners (NNS) can interfere in the appetite regulation, promoting higher food intake, more weight gain (WG) and the increase of adiposity. A previous study, performed by our research group, demonstrated that the use of saccharin ($p=.005$) and aspartame ($p=.048$) promoted more WG when compared with the use of sucrose. However, due to the methodological limitations, it was not possible to say whether sweeteners could promote more WG compared to an inert condition, or if the sub-components of sucrose (glucose and fructose), when evaluated in isolation, might contribute to less WG. Moreover, it was found that the groups of sweeteners compensated the caloric deficit, ingesting proportionally more chow, so that the ratio between the total caloric intake and body weight did not differ between the groups. Thus, it was added a third macronutrient with low power of satiety and potential inducer of greater WG, as the lipid. Therefore, this study contemplates to analyze the effect of the saccharin, comparing it to the control condition, glucose, fructose and lipid, besides evaluating the effect between each group.

Methods: It was conducted a controlled experiment involving 40 male Wistar rats with initial average weight of 300g. The animals were randomized into 5 groups and given water and chow *ad libitum*, and the following diets: Control (20ml of yogurt, 75 kcal/wk), Saccharin (.3%, 75 kcal/wk), Glucose (20%, 139 kcal/wk), Fructose (20%, 139 kcal/wk) or Lipid (9%, 139 kcal/wk). The diets were administered 5 days weekly for 14 weeks. It was performed daily control of food and water intake, and weekly body weight control. Body composition was determined by estimating fat mass represented by the weight (g) of interscapular brown adipose tissue added to the white adipose tissue (epididymal and retroperitoneal); the lean mass was represented by the sum of the gastrocnemius skeletal muscle and cardiac muscle. Everything was removed immediately after sacrificing the animals and weighed in millesimal precision. The data analysis was performed with SPSS version

17, and it was used Linear Mixed Model for longitudinal measures and ANOVA with Tukey's post hoc test for single measures.

Results: There was caloric compensation between intake of the yogurt and chow, so that the total cumulative caloric intake (kcal/g) did not differ between groups. The groups also had similar regarding the water intake (ml/g) and body composition. However, the use of saccharin promoted greater WG than the control ($p=.035$), being similar to the use of glucose ($p=.06$), lipid ($p=.76$) and fructose ($p=.38$). Lipid ($p=.016$) and Glucose groups ($p<.001$) also gained more weight than the control, though, the Fructose group did not differ from this, but had weight gain less than the Glucose group ($p=.006$).

Conclusion: Whatever type of diet, the appetite regulation appears to be dependent on calorie intake, being proportional to body weight, as well as water intake. The chronic use of saccharin demonstrated to promote greater WG, being similar to the use of lipids, glucose or fructose. Already, the Fructose group showed intermediate weight gain, differing only of Glucose group. Although there are differences in weight gain, the estimate of lean and fat mass was similar between groups. Additional studies are needed to elucidate other mechanisms that, independently of caloric intake, would be involved in more weight gain.

Keywords: saccharin, glucose, fructose, lipid, energy intake, weight gain

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DA LITERATURA

Figura 1: Regulação do balanço energético.....	17
Figura 2: Principais mecanismos da regulação a curto prazo da ingestão alimentar.....	20
Figura 3: Locais onde alguns hormônios gastrointestinais são secretados e suas principais funções.....	21
Figura 4: Modelo de <i>feedback</i> negativo mostrando como mudanças na adiposidade corporal são acopladas à compensação da ingestão alimentar.....	25
Figura 5: Composição química da sacarose, glicose e frutose.....	29

ARTIGO

Figure 1: Cumulative weight gain (g) over the 14 weeks.....	75
Figure 2A: Cumulative energy intake of yogurt diets corrected by the weight weekly (kcal/g) over the 14 weeks.,.....	76
Figure 2B: Cumulative energy intake of chow corrected by the weight weekly (kcal/g) over the 14 weeks.....	77
Figure 2C: Cumulative total energy intake (chow plus yogurt diet) corrected by the weight weekly (kcal/g) over the 14 weeks.....	78
Figure 3: Cumulative water intake corrected by the weight weekly (ml/g) over the 14 weeks.....	79

LISTA DE TABELAS

ARTIGO

Table 1: Composition and management of the yogurt diets..... 73

Table 2: Body composition in grams at the end of 14 weeks..... 74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgRP: Peptídeo Relacionado ao Agouti

ANC: Adoçantes Não-Calóricos

ARC: Núcleo Arqueado

ATP: Adenosina Trifosfato

BE: Balanço Energético

CART: Transcrito Regulador por Cocaína e Anfetamina

CCK: Colecistoquinina

ColS.: Colaboradores

DE: Densidade Energética

DEXA: Densitometria por Dupla Emissão de RaiosX

DM2: Diabetes Mellitus Tipo 2

ECR: Ensaio Clínico Randomizado

GI: Gastrointestinal

GIP: Polipeptídeo Insulinotrópico Dependente de Glicose

GLP-1: Peptídeo Semelhante ao Glucagon 1

GLP-2: Peptídeo Semelhante ao Glucagon 2

GLUT2: Transportador de Glicose 2

GLUT5: Transportador de Glicose 5

GSIS: Insulina Estimulada pela Glicose

HFCS: Xarope de Milho rico em Frutose

IA: Ingestão Alimentar

IG: Índice Glicêmico

IMC: Índice de Massa Corporal

NMB: Neuromedina B

NPY: Neuropeptídeo Y

NTS: Núcleo do trato solitário

POMC: Pró-Opiomelanocortina

PP: Polipeptídeo Pancreático

PYY: Peptídeo yy

SGLT1: Cotransportador Sódio-Glicose1

SNC: Sistema Nervoso Central

TG: Triglicerídeos

TGI: Trato Gastrointestinal

α -MCH: Hormônio α -Melanócito Estimulante

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 CONTROLE ALIMENTAR E BALANÇO ENERGÉTICO	17
2.1.1 Balanço Energético	17
2.1.2 Conceitos sobre a Regulação do Apetite	18
2.1.3 Regulação a Curto Prazo da Ingestão Alimentar	19
2.1.4 Homeostase do Balanço Energético: Regulação a Longo Prazo	24
2.2 INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DOS ALIMENTOS NA SACIEDADE E NO PESO CORPORAL	27
2.2.1 Macronutrientes	27
2.2.1.1 Lipídios	27
2.2.1.2 Sacarose	29
2.2.1.3 Frutose	31
2.2.1.4 Glicose.....	34
2.2.2 Adoçantes Não-Calóricos	37
2.2.2.1 Sacarina	39
2.2.2.2 Relação com Mecanismos Neuroendócrinos	41

2.3 INFLUÊNCIA DA DENSIDADE ENERGÉTICA E DO CONTEÚDO CALÓRICO NA SACIEDADE.....	43
3. OBJETIVOS.....	47
3.1 OBJETIVO GERAL.....	47
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
5. ARTIGO	60
6. CONSIDERAÇÕES GERAIS	83
ANEXOS	85

1. INTRODUÇÃO

Segundo a *American Dietetic Association* (ADA) [1], indivíduos que desejam manter o sabor doce dos alimentos, mas sem adicionar calorias, podem optar pela substituição de açúcares por adoçantes não-calóricos (ANC), como medida adjuvante na gestão do peso corporal.

Entretanto, o consumo global de ANC tem crescido significativamente nas últimas três décadas, coincidindo com o aumento da incidência e prevalência de sobrepeso e obesidade [2].

Recentes estudos epidemiológicos[3-6] confirmaram que o uso de produtos que contenham ANC está positivamente correlacionado com a incidência de sobrepeso e obesidade, além de diabetes mellitus tipo 2 (DM2), doença cardiovascular e síndrome metabólica (SM). Porém, há de se considerar que devido às características metodológicas desses estudos, esta associação é passível de viés de causalidade reversa, visto que o uso de ANC pode não ser a causa, e sim a consequência da condição patológica ou do excesso de peso.

Todavia, a hipótese de que o uso de ANC poderia interferir na regulação do apetite e induzir ao maior ganho de peso tem sido evidenciada em diversos estudos experimentais e ECRs [7-9].

Swithers e Davidson [10] conduziram uma série de experimentos controlados, os quais demonstraram que o uso de sacarina implicou na menor habilidade de compensar calorias, promovendo maior ingestão calórica total, maior ganho de peso e maior adiposidade, quando comparado ao uso de glicose.

Utilizando o mesmo protocolo dietético, um estudo prévio (dados não publicados) realizado por nosso grupo de pesquisa, com seguimento de 12 semanas, verificou que o uso de sacarina ($p=0,005$) ou aspartame ($p=0,048$) induziu ao maior ganho de peso quando comparado ao uso de sacarose. Porém, na ausência de um grupo controle (inerte), não foi possível avaliar o efeito individual do uso dos adoçantes no maior ganho de peso, ou ainda, se o uso isolado dos monossacarídeos componentes da sacarose (glicose e frutose) promoveria menor ganho de peso quando comparados a esta condição de neutralidade. Nesse estudo precedente, também foi verificado que a diferença no ganho de peso não foi relativa à ingestão de calorias totais, visto que, ambos os grupos compensaram a diferença calórica das dietas de iogurte, ingerindo, proporcionalmente, mais ou menos ração, de modo que, a ingestão calórica total foi similar entre os grupos experimentais.

Devido a esta similaridade, o presente estudo contemplou incluir comparativamente o uso de lipídio. Isso porque se que dentre os macronutrientes, os lipídios apresentam o menor poder de saciedade [11], induzindo ao consumo calórico excessivo [12] e conseqüente ganho de peso [13].

Deste modo, o objetivo fundamental deste estudo foi avaliar o impacto no balanço energético (BE) e na regulação do apetite mediado pelo uso crônico de sacarina, comparando-a em relação à condição controle e ao uso de diferentes macronutrientes, como glicose, frutose ou lipídio.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CONTROLE ALIMENTAR E BALANÇO ENERGÉTICO

Devido à sua relação com o BE, o controle de ingestão alimentar (IA) é um dos mais importantes fatores, supostamente, envolvidos no sucesso do tratamento e prevenção da obesidade. A ingestão de alimentos, o gasto energético e a adiposidade corporal são regulados homeostaticamente [14].

Sinais centrais e periféricos interagem informando o estado atual do BE através de estímulos enviados ao sistema nervoso central (SNC), incluindo o hipotálamo e o tronco cerebral. Fome e saciedade representam respostas coordenadas a esses sinais, que incluem mensagens neuro-hormonais [14].

2.1.1 Balanço Energético

Segundo Bouchard [15], o BE é determinado pela ingestão de macronutrientes, pelo gasto energético e pela termogênese. Deste modo, o BE positivo resultará em ganho de peso corporal na forma de gordura, enquanto o BE negativo resultará no efeito oposto (Figura 1).

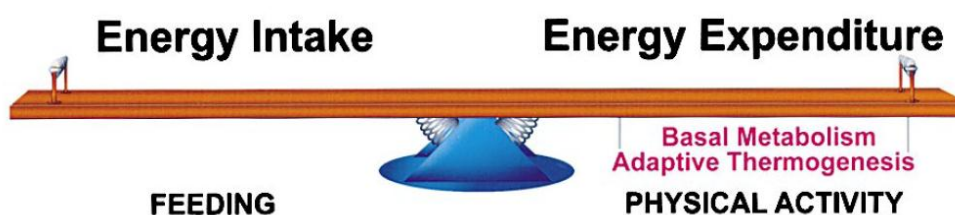


Figura 1: Regulação do Balanço Energético. A obesidade desenvolve-se apenas se a ingestão calórica cronicamente excede o gasto energético total, o qual inclui atividade física, metabolismo basal e termogênese adaptativa [16].

No entanto, a complexidade do BE envolve também fatores neuronais, endócrinos, adipocitários e entéricos que atuam mutuamente na regulação da IA. A IA depende de uma complexa rede de integração entre os mecanismos regulatórios de curto prazo (relacionados ao controle do apetite) e mecanismos de longo prazo (relativos ao estoque e ao gasto de energia). Sob condições normais, tal interação visa manter o peso corporal constante, apesar de oscilações diárias na ingestão energética, mantendo assim, a homeostase do BE.

2.1.2 Conceitos sobre a Regulação do Apetite

A regulação do apetite, bem como a sensação de fome e saciedade, é um fator determinante que afeta a adesão e o sucesso do tratamento dietético no gerenciamento do peso [17].

O apetite é determinado pela fome, saciedade e saciação. A fome é o estado biológico que induz a ingestão de alimentos e envolve facetas metabólicas, cognitivas e sensoriais [18]. A saciedade é o estímulo incitado após a IA e determina o período entre as refeições. Logo, a saciação determina a redução da fome e limita a quantidade de energia consumida durante as refeições [19, 20]. Assim, é essencial que qualquer consideração sobre o apetite, como um determinante do comportamento alimentar e do BE, contemple tanto a saciedade como a saciação [18].

Os mecanismos que regulam o apetite têm base fisiológica, mas também são fortemente influenciados por fatores ambientais, como a disponibilidade de alimentos, a estimulação sensorial e cognitiva, e questões como saúde, crenças e horários habituais das refeições [18, 19].

A ingestão de alimentos com maior poder de saciedade pode favorecer o controle da ingestão calórica, por não determinar o aumento da sensação de fome entre os intervalos prandiais [21]. Deste modo, contribui para o melhor gerenciamento do peso corporal a longo prazo.

2.1.3 Regulação a Curto Prazo da Ingestão Alimentar

A regulação a curto prazo da IA, controla o que, quando e quanto é ingerido dentro de um único dia ou uma refeição, os quais são coordenados por uma série sincronizada de sinais neuroendócrinos, que se originam a partir do trato gastrointestinal (TGI) em resposta às propriedades mecânicas e químicas dos diferentes alimentos ingeridos [22, 23].

A regulação do apetite é fundamentada numa abrangente rede de interações sincronizadas que fazem parte de um sistema psicobiológico, o qual pode ser conceitualizado em três níveis (Figura 2). Eventos neurais desencadeiam e guiam o processo, mas cada etapa deste sistema envolve respostas periféricas e fisiológicas, que por sua vez, se traduzem em atividade neuroquímica cerebral, a qual representa o impulso para iniciar ou cessar a IA [26].

Mesmo antes do contato do alimento com a cavidade oral, sinais fisiológicos são gerados pela visão e olfato. Tais eventos constituem a fase cefálica do apetite, que se traduz em respostas geradas a partir TGI, antecipando assim o processo alimentar. Durante e imediatamente após a IA, informações aferentes fornecem maior controle sobre o apetite. Sinais pré-ingestivos fornecem *feedback* positivo, enquanto que estímulos pós-ingestivos, provenientes principalmente do estômago e do intestino delgado, produzem *feedback* negativo [24]. Deste modo, os fatores pós-

ingestivos parecem desempenhar um papel fundamental na saciedade através da secreção de peptídeos em resposta aos diferentes alimentos ingeridos[25].

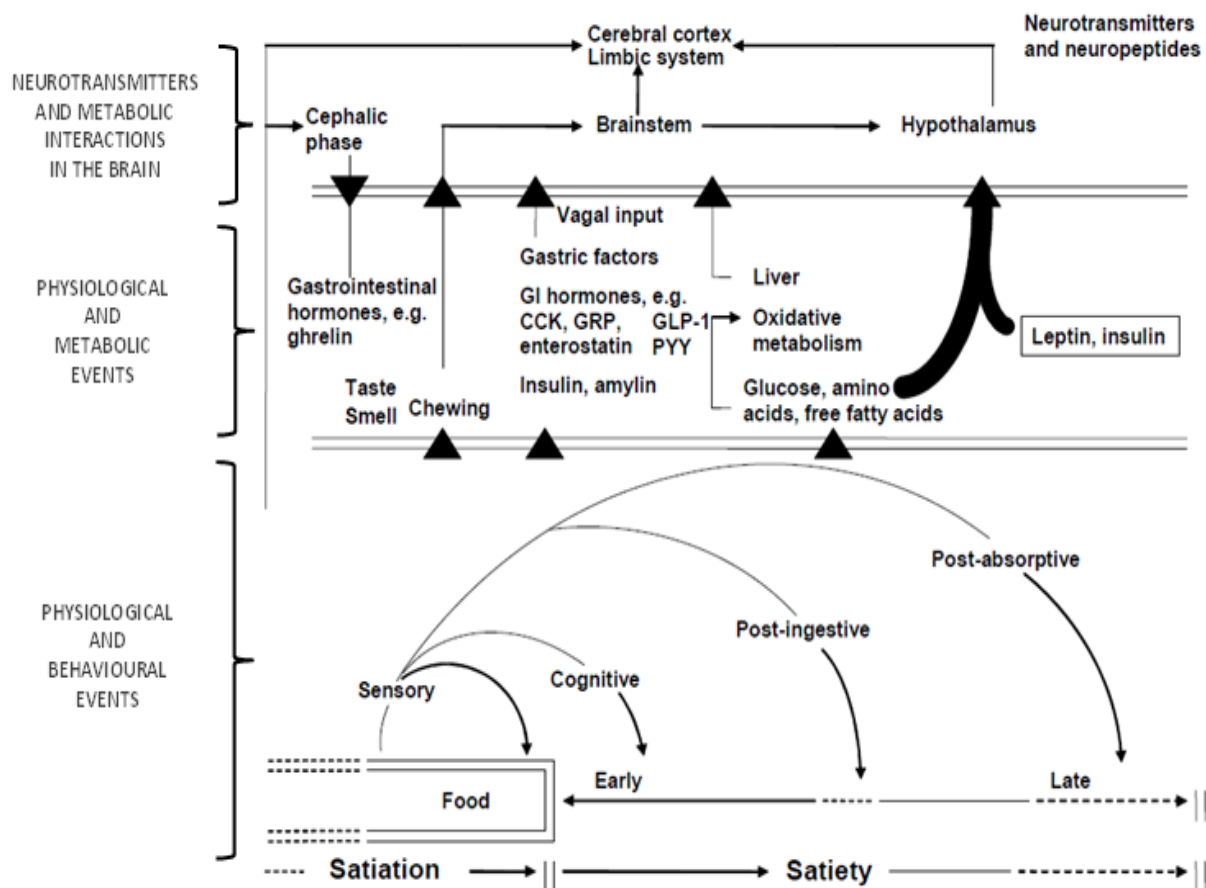


Figura 2: Principais mecanismos da regulação a curto prazo da ingestão alimentar. Constituído por eventos psicológicos (percepção da fome, desejos e sensações hedônicas) e comportamentais (ato alimentar propriamente dito), seguido por eventos fisiológicos e metabólicos (sinais periféricos) e interação no SNC [26].

Vários sítios no TGI, incluindo estômago, pâncreas, intestino delgado e cólon secretam hormônios que atuam na regulação do apetite (Figura 3). Estes hormônios gastrointestinais (GI), através do nervo vago, atingem o núcleo do trato solitário (NTS) no tronco encefálico caudal. Do NTS, fibras aferentes são convergidas para o hipotálamo, que é o centro do BE homeostático [27]. No hipotálamo, há o núcleo arqueado (ARC) que contém duas populações de neurônios, os quais apresentam efeitos opostos sobre a ingestão alimentar. Os neurônios orexígenos na área medial

do ARC expressam o neuropeptídeo Y (NPY) e peptídeo relacionado ao Agouti (AgRP). Lateralmente localizado, há os neurônios anorexígenos, que secretam o hormônio α -melanócito estimulante (α -MSH), derivado do pró-opiomelanocortina (POMC) e o transcrito regulador por cocaína e anfetamina (CART) [28]. Assim, no hipotálamo, ocorre a completa integração entre os sinais periféricos GI, que participam na regulação a curto prazo, e os sinais de adiposidade, que atuam na regulação da IA a longo prazo.

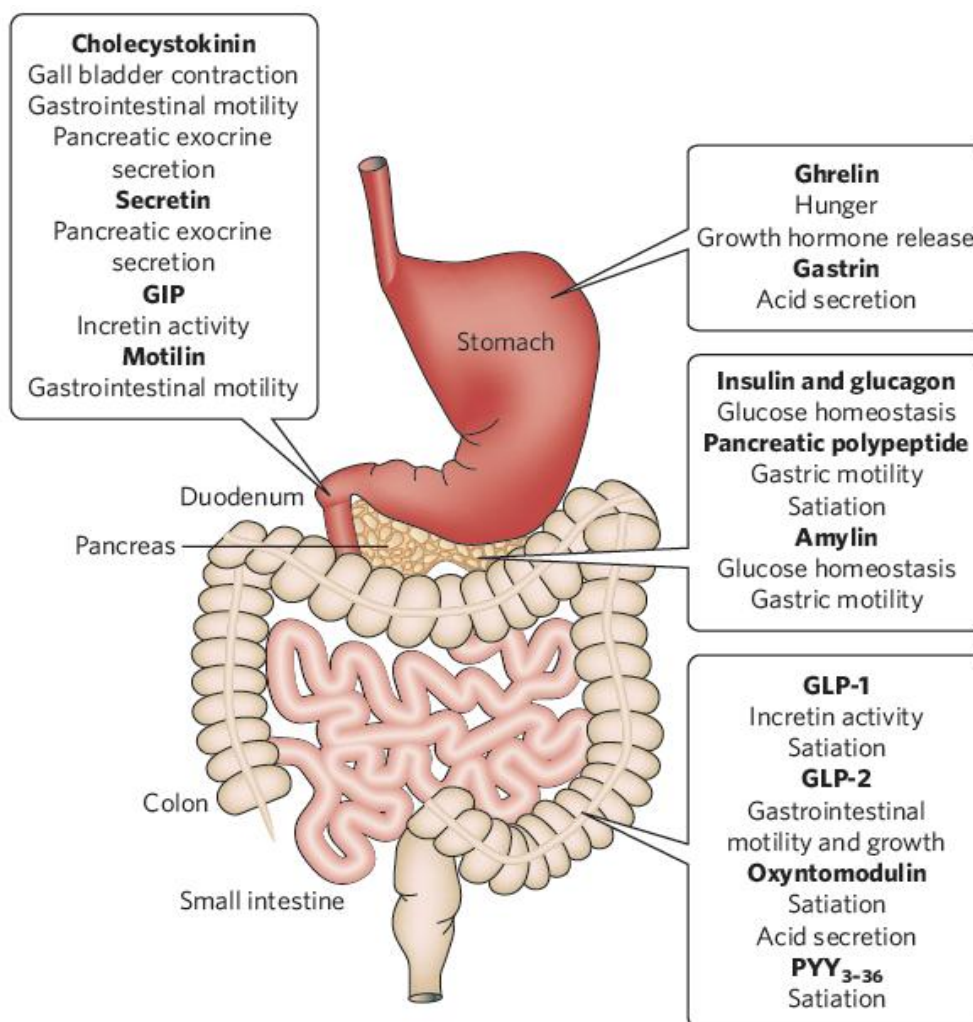


Figura 3: Locais onde alguns hormônios gastrointestinais são secretados e suas principais funções. A grelina e a gastrina são liberadas pelo estômago; insulina, glucagon, PP, e amilina pelo pâncreas; CCK, secretina, GIP e motilina pelo intestino delgado; GLP-1, GLP-2, oxintomodulina e PYY₃₋₃₆ pelo intestino grosso. Esses hormônios periféricos sinalizam o SNC para os processos biológicos envolvidos na IA e no BE [14].

Tanto a composição como a estrutura físico-química dos alimentos afeta a liberação de peptídeos GI de diversas maneiras. Muitos destes também estão envolvidos na inibição da motilidade GI, especialmente os peptídeos grelina, colecistoquinina (CCK), peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) e peptídeo yy (PYY) [22].

Assim, o alimento ingerido evoca saciedade especialmente através de dois estímulos originados no TGI: processos mecânicos, através da estimulação de terminações nervosas, e pela liberação de peptídeos mediados pelos efeitos químicos dos alimentos [25].

A curto prazo, a secreção de grelina é normalmente suprimida após as refeições e é afetada principalmente pelos carboidratos [29, 30], contudo, não é reprimida pela ingestão de frutose. Recentemente, Steinert e cols. [31] demonstraram que as soluções com mesmo teor de doçura contendo glicose, frutose ou ANC têm efeitos distintos sobre a secreção de peptídeos intestinais. Foi demonstrado que apenas a glicose estimulou potencialmente a secreção de GLP-1 e PYY, e diminuiu a secreção grelina. A frutose foi muito menos eficaz e os ANC não apresentaram nenhum efeito. Uma recente revisão afirmou que a falha dos ANC na liberação de peptídeos poderia resultar em menor saciedade e ingestão calórica aumentada [32].

Quando o conteúdo calórico de uma refeição varia, mas o volume e a distribuição de macronutrientes são mantidos, a intensidade e a duração da supressão da grelina pós-prandial demonstraram ser dose-dependente ao número de calorias ingeridas [33]. Com base nos achados recentes, parece também que a supressão da grelina pós-prandial não é mediada por nutrientes no estômago ou no duodeno (onde a grelina é produzida), mas sim pelo aumento de estímulos pós-

ingestivos referentes à menor osmolaridade intestinal (via sinalização do nervo entérico), bem como picos de insulina. Conseqüentemente, a ingestão de lipídios suprime mal a secreção de grelina em comparação aos outros macronutrientes [34]. Além disso, foi demonstrado que apenas a distensão gástrica com a ingestão de água não é uma condição suficiente para alterar a secreção de grelina [35, 36].

O intestino atua retardando o esvaziamento gástrico através da inibição de mecanorreceptores gástricos [23]. No entanto, apesar da estimulação mecânica pura ser insuficiente para cessar a IA, ela contribui para a saciedade quando atua em conjunto com estímulos pré e pós-ingestivos [37].

O intestino delgado e o cólon desempenham um papel fundamental na saciedade através da liberação de vários peptídeos secretados em resposta ao alimento ingerido [25], como a CCK, o polipeptídeo insulínico dependente de glicose (GIP), o GLP-1 e o PYY. A liberação de CCK é intensamente estimulada pela ingestão de lipídios [38], já os carboidratos estimulam menos, e este aumento persiste pouco, retornando próximo aos valores basais dentro de 1h [39]. A infusão de glicose intragástrica ou intraduodenal também aumenta os níveis plasmáticos de CCK [40]. Tanto os lipídios como os carboidratos, com exceção da frutose, aumentam a concentração do hormônio GIP. Quanto ao GLP-1, aos carboidratos, principalmente a glicose, estimulam mais que os lipídios [41]. Outro hormônio envolvido na saciedade é o PYY, sua secreção é proporcional à ingestão de calorias, e não é afetada pela distensão gástrica, nem pelo conteúdo de água [42].

Embora, a regulação de curto e de longo prazo da IA sejam mediadas através de mecanismos distintos, há ampla interação entre ambas, garantindo assim, o equilíbrio do BE apesar das variações diárias no consumo de energia [43]. Os principais reguladores do BE, a longo prazo, os hormônios adipocitários leptina e

insulina, modulam a sensibilidade do organismo através da estimulação/inibição dos sinais de saciedade GI [28].

2.1.4 Homeostase do Balanço Energético: Regulação a Longo Prazo

A longo prazo, um complexo sistema neuroendócrino minimiza o impacto de pequenas flutuações no BE, promovendo a sua homeostase [25]. Em resposta às alterações na adiposidade corporal, o SNC desencadeia adaptações fisiológicas compensatórias que resistem à mudança de peso. Especificamente, quando há perda de peso, verifica-se o aumento da fome e diminuição da taxa metabólica basal, enquanto que o ganho de peso desencadeia respostas opostas [44].

O SNC é informado sobre o status de reservas energéticas corporais através de sinais adipocitários. Estes sinais são transmitidos através de hormônios como a leptina e a insulina, que são secretados em proporção à quantidade de gordura corporal, e atuam no hipotálamo, estimulando o catabolismo (por exemplo, POMC/CART), e inibindo o anabolismo (por exemplo, NPY/AgRP), por vias efectoras. Estas vias têm efeitos opostos sobre o BE (diferença entre a ingestão calórica e gasto energético) que por sua vez determinam a quantidade de combustível armazenado sob a forma de gordura corporal (Figura 4) [28].

A insulina é secretada a partir das células β do pâncreas em resposta aos nutrientes circulantes e aos hormônios incretinas GIP e GLP-1, que são liberados durante a ingestão e absorção de alimentos [45]. A insulina tem o efeito periférico de aumentar a captação de glicose e o metabolismo de lipídeos, levando à queda da glicemia e à consequente fome rebote, além de favorecer o aumento dos estoques de gordura [46]. Também atua estimulando a produção de leptina, que é um hormônio anorexígeno [47, 48].

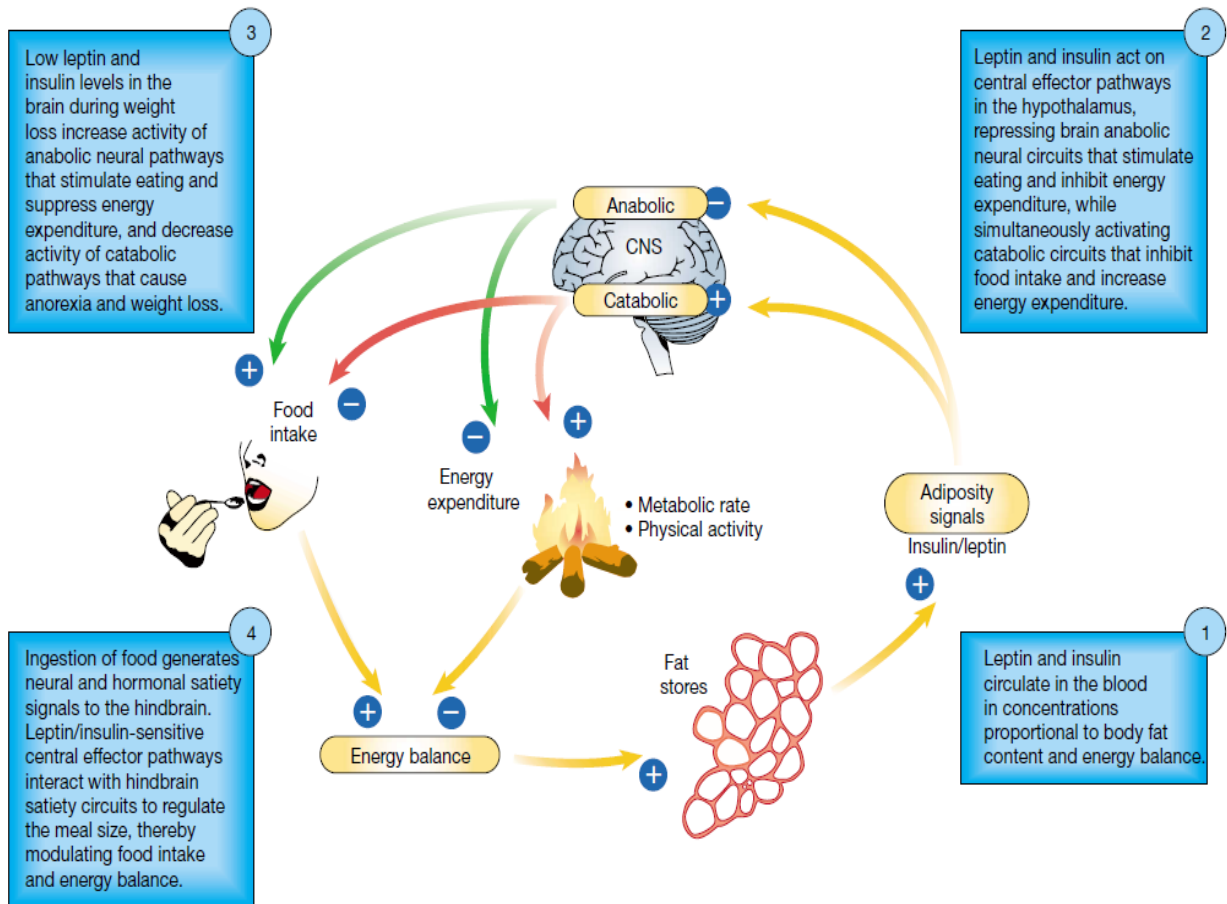


Figura 4: Modelo de *feedback* negativo mostrando como mudanças na adiposidade corporal são acopladas à compensação da ingestão alimentar. A homeostase energética é alcançada quando influências anabólicas e catabólicas estão em equilíbrio em intervalos de tempo. Os hormônios leptina e insulina são secretados em proporção direta ao tamanho da massa adiposa. Durante o estado de BE negativo, menores quantidades de leptina e insulina sinalizam o SNC, o qual estimula o anabolismo e suprime o catabolismo, favorecendo o aumento da IA e armazenamento de energia. Por outro lado, durante o estado de BE positivo, a massa adiposa se expande, aumentando proporcionalmente os níveis de leptina e insulina, as quais sinalizam o SNC a suprimir o anabolismo e estimular o catabolismo, deste modo, reduzindo a IA e adiposidade. Estes circuitos-chave de *feedback* negativo contribuem para a estabilidade do tamanho da massa adiposa ao longo do tempo [28].

Independente de outros combustíveis, a glicose é o estimulador mais poderoso na secreção de insulina, em contraste, a frutose não estimula, e os lipídios são ineficazes na ausência de glicose, ou estimulam a secreção de insulina apenas fracamente quando as concentrações de glicose circulante estão baixas [23]. Apesar de não alterar a glicemia, diversos estudos têm relatado que os ANC promovem a secreção de insulina através da fase cefálica [49].

Foi demonstrado que a administração central, tanto de insulina como de leptina, reduz a ingestão alimentar e o peso corporal [50, 51], e que a resistência ou a deficiência hormonal de seus respectivos receptores no SNC resultam em hiperfagia e ganho de peso [52-54].

Recentemente, foi demonstrado que a grelina, também atua a longo prazo manifestando mudanças compensatórias em resposta a alterações no peso corporal, visto que, níveis circulantes de grelina são inversamente proporcionais aos estoques de energia [34].

Verifica-se que a perda de peso, enquanto evoca a diminuição dos níveis de hormônios catabólicos, também aumenta proporcionalmente os níveis de grelina [55], que é um hormônio anabólico. Deste modo, a grelina induz ao aumento da IA e da diminuição da oxidação de gordura, contribuindo na regulação do equilíbrio energético também a longo prazo.

Os sinais de longo prazo interagem com os sinais de curto prazo na regulação da homeostase energética e parecem definir a sensibilidade para a saciedade através de efeitos de curto prazo, tais como os sinais de estiramento gastrointestinal, estimulação de quimiorreceptores e liberação de peptídeos GI [45].

Portanto, a IA e o peso corporal são resultantes de uma complexa resposta integrada entre os sinais neurais e hormonais que convergem a partir do SNC, TGI e tecido adiposo [23], os quais atuam compensando substanciais desequilíbrios energéticos diários, característicos da maioria dos indivíduos, garantindo assim, o preciso equilíbrio entre a ingestão de energia cumulativa e o gasto energético a longo prazo.

2.2 INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DOS ALIMENTOS NA SACIEDADE E NO PESO CORPORAL

2.2.1 Macronutrientes

Os alimentos, e mais especificamente os macronutrientes, independente do valor calórico, podem exercer efeitos diferentes sobre a saciedade, peso e composição corporal [21, 56, 57]. Em outras palavras, nem todas as calorias são abordadas de forma similar pelo metabolismo. Uma revisão realizada por Karhunen e cols. demonstrou claramente que a composição da dieta também modifica a fisiologia dos sinais neuroendócrinos [23].

2.2.1.1 Lipídios

Dentre os macronutrientes, diversos estudos têm demonstrado que os lipídios apresentam menor poder de saciedade [11, 13, 19, 58], contribuindo para o "consumo excessivo passivo" [12]. No entanto, sugere-se que este efeito pode ser modificado pelo padrão específico de consumo de alimentos durante o curso de um dia[59].

Há evidências de que uma dieta *ad libitum* rica em lipídios (superior a 40%) pode induzir a hiperalimentação, tanto em roedores como em humanos [60-64]. Por conseguinte, estudos têm mostrado que dietas pobres em lipídios são mais eficazes no gerenciamento do peso [65], inclusive, após um período de substancial perda de peso [65-67].

Lissner e cols. [68] avaliaram por duas semanas o efeito da administração de dietas com diferentes proporções de lipídios [baixa (15-20%), média (30-35%) ou

alta (45-50%) proporção de calorias provenientes de lipídios] com similar aspecto e palatabilidade. A ingestão calórica média diária foi positivamente relacionada ao teor de lipídios. Em relação à dieta de baixo teor, verificou-se um déficit de 11,3% na dieta de teor intermediário e um acréscimo de 15,4% na dieta de alto teor ($p < 0,0001$), resultando em mudanças significativas no peso corporal ($p < 0,001$).

Outro estudo clínico de curto prazo, com teores progressivos de lipídios na proporção de macronutrientes, demonstrou um aumento no consumo energético diário proporcionalmente ao teor de lipídios [69]. No entanto, visto que os lipídios têm maior densidade energética (DE) que carboidratos e proteínas, as diferenças no conteúdo de gordura podem ser confundidas com diferenças na DE, apresentando um problema de interpretação.

No intento de isolar o efeito da DE, Warwick e cols. [70], em um estudo experimental, compararam por 16 dias o efeito de dietas isocalóricas (com níveis de 2,3 kcal/ml e 1,15 kcal/ml), rica em gordura vs., rica em carboidratos. Verificaram que houve maior ingestão calórica total e maior ganho de peso no grupo que recebeu dieta rica em gordura.

Outro estudo experimental [71] verificou o efeito de infusões intragástricas ou intravenosas de lipídio ou glicose isocalóricas, além de administração da dieta (ração) rica em carboidrato ou rica em lipídios na IA. Demonstrou-se que a infusão 28,1 kcal/dia de glicose foi mais eficaz em reduzir a IA a curto prazo, representando uma redução na ingestão via oral equivalente a 70%, enquanto que a infusão de lipídio reduziu apenas 40%. Tais dados suportam a hipótese de que a glicose infundida é mais eficaz em reduzir a ingestão a curto prazo que os lipídios. Adicionalmente, além da dieta rica em carboidrato, a infusão intragástrica foi mais

eficaz que a intravenosa na inibição da ingestão diária de ração, o que pode estar relacionado ao “efeito incretina” [72].

Em contrapartida, uma série de experimentos realizados por Bell e Rolls [73, 74] avaliou isoladamente o efeito do conteúdo de lipídios e da DE sobre o consumo energético diário de mulheres. Foi concluído que os indivíduos consumiram menos calorias quando os alimentos tiveram menor DE, já o teor de gordura não afetou o consumo.

Devido ao baixo poder de saciedade, a gordura está vinculada à suscetibilidade à obesidade [58], e tem sido frequentemente apontada como fator contribuinte para o excesso de peso da humanidade [75].

Uma meta-análise concluiu que apenas a redução do teor de gordura da dieta, sem restrição intencional na ingestão de energia, já é capaz de resultar em perda de peso, sendo ainda mais substancial em indivíduos mais pesados [13].

2.2.1.2 Sacarose

Popularmente conhecida como açúcar de mesa, a sacarose é um carboidrato do tipo dissacarídeo composto pelos monossacarídeos glicose (50%) e frutose (50%) (Figura 5) [1]. Tanto a sacarose, como a glicose e frutose possuem 4 kcal/g.

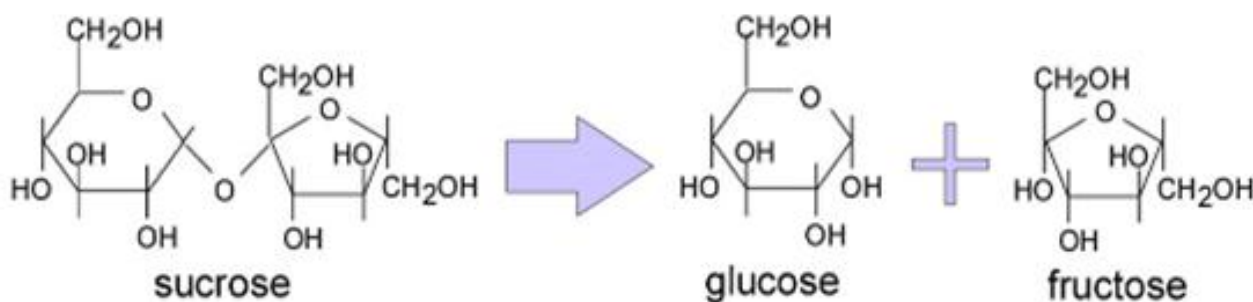


Figura 5: Composição química da sacarose, glicose e frutose.

A sacarose fornece uma grande quantidade de carboidratos rapidamente absorvíveis, levando à ingestão calórica excessiva, ganho de peso e síndrome metabólica [2, 76, 77].

Vários estudos transversais têm avaliado a relação entre o consumo de bebidas adoçadas com açúcar e peso corporal, os quais foram revisados recentemente [78]. Muitos destes estudos realizados em crianças e adolescentes mostrou uma associação positiva entre consumo de açúcar e peso corporal [76, 79-83], mas outros não conseguiram mostrar tal associação [84-86].

Malik e cols. [87] também realizaram uma revisão sistemática da relação entre o consumo de bebidas contendo açúcar e risco de ganho de peso. Foi concluído que as evidências indicam associação positiva com o ganho de peso.

Por outro lado, Bolton-Smitth e Woodwar, em um estudo epidemiológico, encontraram uma relação inversa entre a ingestão de sacarose e o peso corporal em adultos [88], sugerindo que a sacarose pode ajudar a evitar o excesso de peso.

Um estudo prévio realizado por nosso grupo verificou que a suplementação com sacarose promoveu menor ganho de peso em ratos, quando comparada à sacarina ($p=0,005$) e ao aspartame ($p=0,048$) (dados não publicados), no entanto, os grupos não diferiram quanto ingestão calórica total.

Contudo, devido à composição química da sacarose, tanto a frutose como a glicose, quando avaliadas isoladamente, apresentam efeitos diversos no BE. A frutose e a glicose têm diferentes taxas de esvaziamento gástrico, são diferencialmente absorvidas no TGI, e possuem distintas rotas metabólicas e perfis endócrinos, os quais afetam variavelmente a ingestão de alimentos [89].

2.2.1.3 Frutose

A frutose é uma hexose, com uma fórmula química $C_6H_{12}O_6$ idêntica a da glicose. Ela difere da glicose pela presença de um grupo cetônico na posição dois de sua cadeia de carbono, contra um grupo aldeído na posição um da cadeia de carbono da glicose[90]. Está presente nas frutas, e é adicionada aos alimentos e bebidas como *High-Fructose Corn Syrup* (HFCS - 42% a 55% de frutose) ou na forma cristalina. A frutose comumente é utilizada em substituição à sacarose devido o seu poder de doçura, menor custo, e por possuir propriedades funcionais que melhoram cor, sabor e estabilidade do produto [91].

O esvaziamento gástrico de frutose é mais rápido e menos linear que o da glicose [92], porém, sua taxa de absorção é mais lenta. Seu nível circulante após a ingestão de 1g de frutose por quilo de peso corporal se eleva a 0,5 mmol/L em comparação a 10 mmol/L, para a mesma quantidade de glicose [93]. A glicose é absorvida principalmente a partir do TGI pelo transportador sódio-glicose1(SGLT1), enquanto que a frutose é absorvida por difusão facilitada através de transportador de glicose 5 (GLUT5), contrariamente à glicose, este processo não requer a hidrólise de ATP e é independente da absorção de sódio. O transportador de glicose 2 (GLUT2) é um transportador de baixa afinidade que desempenha papel secundário na absorção de frutose e glicose através da difusão facilitada [94].

Comparada à glicose, a absorção de frutose parece ser quantitativamente limitada. Alguns indivíduos podem ter uma baixa capacidade de absorver frutose e desenvolvem sintomas como diarreia e flatulência [95, 96], principalmente quando a frutose é ingerida na ausência de glicose [97]. Em roedores, a expressão GLUT5 é muito baixa até o desmame, mas pode ser estimulada pela administração contínua de frutose [98]. Sua absorção pode ainda ser alterada pelo envelhecimento, uma vez

que, em ratos idosos, a absorção de carboidratos, incluindo a frutose, é diminuída [99]. O transporte de frutose também é modulado por constituintes da dieta. Assim, em ratos, uma dieta rica em ácidos graxos saturados (mas não ácidos graxos poliinsaturados) aumenta a absorção intestinal de frutose [100].

Comparativamente à glicose, o metabolismo hepático da frutose favorece a lipogênese, o que pode contribuir para hiperlipidemia. Além disso, a frutose não estimula a secreção de insulina nem de leptina, e suprime mal os níveis de grelina, o que sugere um mecanismo endócrino distinto, através do qual ela induz a um BE positivo [93, 101].

Em macacos rhesus, a infusão de frutose reduziu acentuadamente a secreção de insulina e não aumentou as concentrações circulantes de leptina, já a infusão da mesma quantidade de glicose aumentou mais de 50% os níveis plasmáticos de leptina, em relação aos níveis basais [102].

Elliott [103] propõe que o consumo elevado e crônico de frutose pode causar excesso de peso. O que pode ser causado pela ausência de insulina a nível central, promovendo assim o ganho de peso [45].

Adversamente, Feinle, em um estudo de revisão envolvendo o papel de diversos carboidratos na saciedade, relatou que a frutose pode diminuir a ingestão de alimentos em uma refeição subsequente (após cerca de duas horas) mais do que a glicose. Além disso, Feinle relatou que alterações na glicemia e concentrações de insulina, por si só, provavelmente não desempenham exclusiva função na indução da saciedade [104].

Rodim e cols. [105-107], em uma série de estudos realizados com pré-cargas de frutose e glicose (isocalóricas), demonstraram que a frutose suprimiu mais a ingestão calórica na refeição posterior (2 h ou 38 min após).

Entretanto, Stewart e cols. verificaram que a adição de glicose ou frutose a uma pré-carga de cereais (isocalóricos) produziu uma tendência para o sincronismo dos efeitos diferenciais, resultando em efeitos equivalentes sobre o consumo de uma refeição teste (30 min após). Porém, houve maior efeito da frutose sobre o consumo posterior (120 min mais tarde). Apesar de a frutose resultar em compensação de 70,2% e a glicose apenas 42,5% 2 horas após, essa diferença não foi significativa [108].

Erlanson-Albertsson e Lindqvist avaliaram o efeito de soluções com frutose, glicose e sacarose na expressão hipotalâmica do mRNA de enzimas envolvidas na síntese e degradação dos dois principais endocanabinóides, a anandamida e o 2-araquidonoil glicerol (2-AG). Foi verificado que, após uma semana de intervenção os animais que receberam bebidas açucaradas consumiram menos ração, mas ingeriram mais calorias totais que o controle, mas não tiveram aumento de peso corporal. No entanto, a sacarose e principalmente a frutose afetaram a degradação das enzimas envolvidas na síntese e degradação de ambos endocanabinóides, implicando em susceptibilidade para o desenvolvimento da obesidade [109].

Outro estudo, realizado por Lindqvist e cols. [110], com mesmo protocolo dietético, demonstrou resultados semelhantes quanto à ingestão calórica total e de ração. Porém, em duas semanas os animais que receberam bebidas com glicose, frutose ou sacarose apresentaram maior ganho de peso, aumento nos níveis de leptina e triglicédeos (TG), e diminuição nos níveis de PYY e NPY. Os níveis séricos de grelina foram maiores apenas nos animais que receberam frutose, e os níveis de ácidos graxos séricos foi praticamente duas vezes maior nesse grupo. Curiosamente, a frutose diminuiu a glicemia e aumentou a insulinemia, já os demais grupos, não houve diferença. Deste modo, todos os açúcares analisados

demonstraram induzir ao consumo excessivo e conseqüente ganho de peso, o que pode ser atribuído a uma secreção alterada na produção de hormônios e peptídeos, como grelina, leptina e PYY, envolvidos na regulação do apetite e alimentação.

Em modelos animais, várias pesquisas têm abordado os efeitos de dietas ricas em frutose ou sacarose. De modo geral, eles indicaram que ambas as dietas ocasionaram efeitos metabólicos adversos, incluindo dislipidemia, resistência à insulina, hipertensão arterial, hiperuricemia e ganho de peso [93, 111, 112]. Inclusive sugerem que o consumo de frutose pode estar relacionado à prevalência de obesidade [90, 93, 103, 112-114].

2.2.1.4 Glicose

A glicose é a principal fonte de energia do organismo, sendo um dos principais contribuintes para a saciedade. Considerando as fontes de carboidratos de fácil digestão, a glicose é o mais poderoso estimulador da secreção de insulina, além disso, a glicose pode potencializar diversos peptídeos orexígenos [115]. Por exemplo, a secreção de grelina é potencialmente suprimida com a administração de glicose [35], além disso, a alta ingestão de glicose aumenta os níveis de leptina, sendo mantidos durante a maior parte do dia [101].

Dentre as diversas fontes de carboidratos, a ingestão de glicose tem maior impacto que a frutose no aumento da concentração de GIP. Todavia, ambos foram igualmente eficazes em suprimir a ingestão de alimentos após uma refeição teste [116, 117].

A glicose pode atuar como um biomarcador de saciedade [118], operando como fator importante na regulação do apetite, principalmente devido a sua regulação metabólica, estoque limitado e substrato energético fundamental para o

SNC. Esta hipótese refere-se à teoria glicostática, proposta por Mayer em 1953, [119], a qual sugere que a fome e a iniciação alimentar espontânea sejam estimuladas, pelo menos em parte, por alterações na concentração de glicose circulante. Ou seja, mudanças agudas nas concentrações de glicose plasmática são associadas às variações recíprocas nas sensações que envolvem o apetite [120, 121].

Índice Glicêmico

Em resposta à elevação dos níveis glicêmicos, receptores hipotalâmicos enviam sinais para o centro da saciedade, inibindo a IA. Por outro lado, quando a glicemia está baixa, o centro da fome é ativado, induzindo a IA [122].

O consumo de alimentos de alto índice glicêmico (IG) resulta em maior e mais rápido aumento dos níveis de glicose no sangue do que o consumo de alimentos de baixo IG. O rápido aumento da glicose circulante é um potente estímulo para as células β do pâncreas a aumentarem a secreção de insulina [123], que conseqüentemente diminuem de forma acentuada os níveis glicêmicos. Em contraste, o consumo de alimentos de baixo IG resulta em menores aumentos da glicemia, contudo, mais sustentáveis, e ocasionam menor demanda de insulina pelas células β -pancreáticas [124].

Diversos estudos clínicos [125-128] sugerem que o IG dos alimentos tem um papel importante na regulação do apetite. A maioria dos estudos publicados revelou que o consumo de alimentos de baixo IG retardou a sensação de fome, diminui a ingestão subsequente e aumentou a saciedade em comparação aos alimentos de alto IG [129]. Jenkins e cols. [130] constataram que as dietas de alto IG, além de apresentarem menor poder de saciedade, também podem alterar o perfil lipídico e a

secreção insulínica, favorecendo também o aparecimento de doenças cardiovasculares e DM2.

Pawlak e cols. [125] verificaram, após 18 semanas de intervenção, que os ratos que receberam alimentos de alto IG apresentaram mais gordura corporal (97,8 [13,6 SE] vs. 57,3 [7,2] g, $p=0,015$) e menos massa corporal magra (450,1 [9,6] vs. 491,9 [11,7] g, $p=0,012$) em relação aos que receberam dieta de baixo IG. Tal grupo também teve um exacerbado aumento nas áreas sob a curva de glicose e insulina plasmáticas após a administração de glicose oral, além de apresentarem concentrações mais baixas de adiponectina plasmática e mais elevados níveis de triglicérides.

Outros estudos evidenciaram que dietas de baixo IG promovem uma série de efeitos favoráveis, tais como, perda de peso rápida, melhor controle da glicose e dos níveis de insulina, redução de triglicérides e redução da pressão arterial [131, 132].

Assim, o alto IG pode induzir à obesidade [125], por induzir à hiperinsulinemia [127], a qual é considerada como um fator de risco independente para o ganho de peso [126].

Por outro lado, estudos de intervenção mostraram que as dietas com carboidratos de baixo IG praticamente não demonstraram nenhum impacto sobre o peso corporal ou saciedade em comparação com carboidratos isocalóricos de alto IG [108, 133].

Bornet e cols.[134] concluíram numa recente revisão que devido ao amplo número de variáveis de confusão presentes nos estudos a longo prazo, não é possível afirmar se as dietas de baixo IG mediam efeitos benéficos na saúde com base na regulação do peso corporal.

2.2.2 Adoçantes Não-Calóricos

Uma solução proposta para os problemas causados pelo excessivo uso de açúcares é a sua substituição por adoçantes não calóricos (ANC). Também são utilizados por indivíduos diabéticos, pois não promovem alteração nos níveis glicêmicos.

Atualmente, cinco destes produtos são aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA): sacarina, acesulfame-K, aspartame (possui calorias insignificantes), neotame e sucralose. Também são denominados adoçantes artificiais, tendo em vista que são produzidos sinteticamente [1]. A stévia, um natural extrato da planta *steviarebaudiana*, recebeu aprovação da FDA em 2008. Estes adoçantes são milhares de vezes mais potentes que a sacarose e provocam uma intensa sensação de doçura em baixas concentrações [135].

Entretanto, estudos mostram que o consumo destes adoçantes pode não estar associado à perda ponderal [136]. Segundo Rogers, dietas hipocalóricas conduzem à ativação de mecanismos homeostáticos, resultando em aumento da fome e diminuição da taxa metabólica basal [137], conduzindo ao ganho de peso. Ensaio clínicos, estudos experimentais e epidemiológicos fornecem alguma evidência para o efeito dos adoçantes na saciedade e no peso corporal.

Raben e cols. [138] avaliaram o efeito alimentação *ad libitum* com sacarose ou ANC (aspartame, acesulfame-K, ciclamato e sacarina) em 41 adultos com sobrepeso por 10 semanas. Foi verificado que os indivíduos que ingeriram quantidades relativamente altas de sacarose (28% da ingestão calórica) apresentaram aumento da ingestão calórica, do peso corporal e da massa gorda. E, no grupo de indivíduos que consumiram ANC tais desfechos permaneceram inalterados.

O *San Antonio Heart Study* [3] avaliou a relação entre o consumo de bebidas contendo ANC e ganho de peso em 3.682 adultos ao longo 7-8 anos na década 80, os quais foram pareados por IMC inicial, gênero, etnia e dieta usual. Os usuários de ANC (alimentos e bebidas *diets*) consistentemente apresentaram IMC maior no decorrer do tempo, com significativa dependência dose-resposta. No geral, o Δ IMC ajustado foi 47% maior entre os usuários de ANC vs. não-usuários (1,48 kg/m² vs. 1,01 kg/m², respectivamente, $p < 0,0001$).

Outro estudo, realizado pelo *American Cancer Society*, com seguimento de um ano, incluiu 78.694 mulheres com homogeneidade em relação à idade, etnia, status socioeconômico, e ausência de condições patológicas pré-existentes. Independentemente do peso inicial, as usuárias de ANC foram significativamente mais propensas a ganhar peso (2,7% a 7,1%) quando comparadas às não-usuárias. A diferença média de peso entre os dois grupos foi inferior a 2 kg, embora estatisticamente significativa [139].

Observações semelhantes também foram relatadas em crianças e adolescentes. Um estudo prospectivo com dois anos de seguimento, envolvendo 166 indivíduos com idade escolar, verificou que o aumento no consumo de refrigerantes *diets*, contendo ANC, esteve associado com maior IMC Z-score ($R_2 = 0,83$; $p < 0,001$); outras bebidas contempladas no estudo, como leite e bebidas açucaradas, não apresentaram associação com o ganho de peso [85].

Em um ECR (ensaio clínico randomizado), conduzido por 25 semanas, com 103 adolescentes, a substituição de bebidas açucaradas por versões contendo ANC promoveu redução do IMC apenas nos indivíduos com excesso de peso [140].

Contudo, como diferentes ANC podem exercer diferentes efeitos metabólicos é ponderável que seu estudo e conclusões sejam conduzidos de modo não generalizado.

2.2.2.1 Sacarina

A sacarina é o adoçante artificial mais antigo, foi descoberta acidentalmente por Constantine Fahlberg da Universidade Johns Hopkins em 1879, quando trabalhava com derivados do alcatrão e carvão, a fim de descobrir novos conservantes alimentares, e que, ao lambar os dedos teria se surpreendido com o intenso sabor doce [141], visto que sacarina é 300 vezes mais doce que a sacarose, entretanto possui um gosto residual amargo [1].

Entre 1890 e 1930, a sacarina foi o único adoçante artificial produzido nos Estados Unidos, sendo comercializado exclusivamente como um produto especial para o uso de indivíduos diabéticos [142], e, a partir da década de 80, passou a ser utilizada também por indivíduos que desejam perder ou manter o peso corporal [143]. No entanto, há inconsistência entre os estudos que visam avaliar sua interação na regulação do apetite, impacto no consumo energético e influência na regulação do peso corporal.

Um grande estudo avaliou padrões de mudança de peso e sua relação com a dieta ao longo de oito anos e associou o uso da sacarina ao ganho de peso em 31.940 mulheres com idades entre 30 a 55 anos, provenientes do *Nurse's Health Study* realizado na década de 70 [6].

Swithers & Davidson [10], em um estudo experimental, relataram que a suplementação de iogurte com sacarina, quando comparada à suplementação com glicose, implicou na reduzida capacidade de compensar o déficit calórico,

promovendo o aumento da ingestão calórica total, além do aumento de 20% do peso corporal e aumento da adiposidade. A pesquisa baseou-se na teoria do reflexo condicionado de Ivan Pavlov [144], a qual propõe que todos os animais condicionam-se a um determinado estímulo fisiológico após uma experiência sensorial e fisiológica específica.

Um estudo experimental precedente, conduzido por nosso grupo de pesquisa, demonstrou que a suplementação com sacarina e aspartame promoveu maior ganho de peso que o grupo suplementado com sacarose, $p=0,005$ e $p=0,048$, respectivamente (dados não publicados). Foi verificado que, apesar da diferença no ganho de peso, os grupos compensaram a déficit calórico dos adoçantes ingerindo proporcionalmente mais ração. Esta compensação não foi comprometida, visto que, a fração entre a ingestão calórica total e peso corporal não diferiu entre os grupos ($p=0,89$).

Outro recente estudo, realizado em camundongos [7] comparou o efeito de diversos ANC (sacarina, ciclamato, acesulfame-K e aspartame) em relação ao controle (água pura), e demonstrou que o uso de adoçantes, de um modo geral, implicou no maior ganho de peso. No entanto, os grupos dos adoçantes não apresentaram diferença na ingestão calórica, corrigida pelo peso corporal.

Rogers e Blundell [145], em um ECR, avaliaram o efeito de pré-cargas contendo sacarina, glicose, amido ou iogurte puro, os suplementos variaram em teor calórico e doçura. Os resultados indicaram que a sacarina estimulou significativamente o aumento posterior da IA, em relação ao controle (iogurte puro) e ao grupo suplementado com glicose, já a glicose suprimiu em maior grau a IA e o suplemento de amido suprimiu um pouco menos. Foi concluído que a sacarina

possui menor capacidade de saciar que a glicose, este efeito foi atribuído ao intenso sabor doce e aos efeitos sobre os mecanismos pós-ingestivos da sacarina.

2.2.2.2 Relação com Mecanismos Neuroendócrinos

Múltiplos mecanismos neuroendócrinos têm sido propostos para explicar a associação entre o uso destes adoçantes e regulação do apetite [32]. A maioria dos estudos sustenta a hipótese de que a sacarina, e os ANC de um modo geral, implicam na dissociação entre a percepção do gosto doce e ingestão calórica consequente, induzindo ao maior consumo energético e ganho de peso [8].

Diversos estudos constataram, que o gosto doce da sacarina, e de outros ANC, pode induzir à secreção de insulina, de modo independente do conteúdo energético ou da glicemia [146-150]. Sugere-se que tal efeito seja decorrente da estimulação dos receptores para o gosto doce, T1R2/T1R3 [151, 152].

Além das células gustativas na língua, tais receptores de sabor doce foram recentemente identificados nas células epiteliais do intestino delgado de roedores [153] e de humanos [154], e, também na superfície de células β do pâncreas [152]. De fato, os receptores T1R2/T1R3 parecem responder a várias moléculas de sabor doce tão diversas como a sacarose, a sacarina, o acesulfame-K e a sucralose [155], e até mesmo proteínas, como a monellina e a taumatina [156, 157].

A sacarina, a sucralose e o aspartame demonstraram aumentar a secreção de insulina basal em ilhotas pancreáticas de ratos após trinta minutos de incubação estática em soluções contendo 2,5 mM de adoçante. Resultados adicionais mostraram que a sacarina foi o único adoçante que inibiu a insulina estimulada pela glicose (GSIS), em níveis de concentrações de glicose submáximo e máximo, já os demais adoçantes não apresentaram este efeito. Assim, os ANC, de um modo

geral, podem afetar a secreção de insulina através da interação com o receptor de sabor doce. No entanto, a sacarina em particular, pode afetar outros processos celulares ligados à secreção de insulina [158].

A liberação de insulina pelas células β faz com que glicose circulante seja potencialmente armazenada nos tecidos (incluindo gordura). Assim, o consumo de ANC resultaria em baixos níveis glicêmicos, associados ao aumento da secreção de insulina, o que poderia implicar na incompleta sensação de saciedade, promovendo maior ingestão de alimentos ou ainda potencializando a absorção de glicose.

Margolskee e cols. [159] mostraram recentemente que a expressão de células enteroendócrinas para o gosto doce também regula a expressão do SGLT1, que é expressa nos enterócitos. Por conseguinte, ativadores do receptor de sabor doce podem induzir a secreção de GLP-1 e GIP, pois ambas são estimuladas pela expressão de SGLT1 nos enterócitos.

Estudos in vitro demonstraram que tanto os açúcares como os ANC foram capazes de estimular a liberação de GLP-1 e GIP [146, 159]. Todavia, este achado não foi reprodutível em outros estudos [160, 161]. Steinert e cols. [31] verificaram em humanos que os ANC não estimularam a secreção de GLP-1 e PYY, nem suprimiram a secreção de grelina. Estes dados sugerem que devido à ausência de mecanismos pós-ingestivos, os ANC não têm efeito sobre a saciedade, e nem sobre classificações de fome.

A nível central, um recente estudo [162] demonstrou que a ingestão de bebidas calóricas (sacarose) e não-calóricas (sacarina, ciclamato, aspartame e acesulfame-K) com mesma intensidade de sabor afeta distintas regiões cerebrais, sugerindo que, a saciedade sensorial e metabólica diferentemente são influenciadas pela ativação do gosto nestas áreas.

Contudo, apesar de não haver consenso e nem resultados conclusivos, sobre o efeito do uso da sacarina e de outros ANC sobre a regulação fisiológica e metabólica do apetite, recentes revisões sugerem que o uso de ANC não é capaz de promover a redução de peso por si só, sem que haja redução intencional no consumo energético total [32, 163].

2.3 INFLUÊNCIA DA DENSIDADE ENERGÉTICA E DO CONTEÚDO CALÓRICO NA SACIEDADE

Além da composição dos alimentos, outras propriedades como o conteúdo calórico ou a densidade energética (DE) variam em sua capacidade de afetar o apetite [164]. A avaliação dos efeitos dessas propriedades nos fornece informações sobre fatores adicionais que contribuem para o controle alimentar e gerenciamento do peso [18].

A DE é definida como a quantidade de energia disponível por unidade de peso ou volume do alimento (kcal/g ou kcal/ml) [165]. A adição de fibras dietéticas, de água e a substituição de sacarose por ANC contribuem na redução da DE. O teor de macronutrientes também afeta a DE, visto que, os lipídios possuem 9 kcal/g, enquanto os carboidratos e proteínas possuem 4 kcal/g, portanto, os lipídios têm maior influência sobre a DE dos alimentos [166].

Alimentos altamente energéticos tendem a serem ricos em gordura e/ou açúcar, e são altamente palatáveis [167], induzindo provavelmente ao consumo excessivo. Entretanto, estudos sugerem que a DE dos alimentos, independente do seu teor de açúcar ou de gordura, desempenha um papel central na determinação do consumo calórico [58, 165, 167-170].

Sugere-se que, a curto prazo, indivíduos que se alimentam regularmente, tendem a ingerir mais calorias ao longo do dia quando lhes é ofertado alimentos de alta DE, visto que, os humanos têm pouca capacidade inata para regular negativamente o volume de alimentos consumidos para compensar a alta DE [171]. Já, os alimentos de baixa DE podem aumentar a saciedade, diminuir sensação de fome e reduzir a ingestão calórica diária [165]. Assim, a redução da DE da dieta pode fornecer estratégias eficazes para a prevenção e tratamento da obesidade [166].

Rolls [169] sugere que a longo prazo, as pessoas tendem a consumir um peso ou volume relativamente constante de alimentos. Devido a isso, a DE dos alimentos é um fator determinante do consumo calórico. A DE dos alimentos pode ter um efeito importante tanto na saciação (a quantidade consumida em uma refeição) como na saciedade (o efeito sobre o consumo subsequente), independentemente da palatabilidade e do conteúdo calórico.

Em um estudo transversal [172], envolvendo 191.023 participantes de uma corte multiétnica, foi verificado que o acréscimo de 1kJ/g (0,24 kcal/g) na DE foi associado ao aumento de 1 Kg/m² no IMC, em cada sexo e grupo étnico. Este mesmo aumento na DE foi associado a um risco significativamente maior de excesso de peso em todos os sexos e grupos étnicos, variando de 4% em homens americanos de origem africana a 34% em mulheres americanas de origem japonesa.

No entanto, por se tratar de um estudo transversal, tal interpretação está sujeita a viés de causalidade reversa, que ocorre quando a aparente exposição é consequência do desfecho. Visto que, indivíduos com maior IMC tendem a ingerir proporcionalmente alimentos de maior DE, preservando assim a homeostase do BE.

Vários outros estudos [73, 74, 171, 173] têm demonstrado que, quando os indivíduos consomem refeições de baixa DE o seu consumo diário de calorias é significativamente menor do que quando consomem refeições de maior DE.

Bell e Rolls [171] realizaram um ECR com mulheres magras e obesas, no qual foi administrado dietas *ad libitum* de alta (1,75 kcal/g) e baixa DE (1,25 kcal/g), com diferentes concentrações de lipídios (25%, 35% e 45%) e mesmo volume. Foi verificado que a DE influenciou o consumo calórico em todos os teores de lipídios, tanto nas magras como nas obesas ($p < 0,0001$). Apesar do consumo calórico, ser 20% menor no grupo que recebeu dietas de baixa DE, houve apenas pequenas diferenças nas sensações de fome (7%) e plenitude (5%).

Entretanto, sugere-se que a ingestão calórica de uma refeição subsequente pode resultar em compensação de calorias quando a ingestão é avaliada ao longo do dia [21]. A compensação calórica envolve a capacidade de ajustar o excesso ou o déficit de calorias consumidas, reduzindo ou aumentando posteriormente, o consumo calórico [174, 175], independentemente do volume ingerido.

Corroborando tal hipótese, estudos de longo prazo [176] verificaram que o consumo de alimentos de alta DE foi compensado pela ingestão diminuída nas refeições seguintes, resultando em nenhum efeito líquido sobre o peso corporal [177]. Deste modo, as calorias subtraídas pelo uso de ANC podem ser substituídas ao longo do tempo por outras fontes energéticas. A natureza e a abrangência dessa compensação seriam, portanto, determinadas pelos efeitos sobre peso corporal [135].

Alguns estudos têm relatado compensação de calorias nos seres humanos quando o conteúdo calórico dos açúcares foi substituído por ANC, demonstrando nenhum efeito sobre o apetite e ingestão de alimentos [178-180].

A compensação na ingestão calórica é justificada pela regulação homeostática do BE, a qual sugere que seres humanos ingerem calorias proporcionalmente à demanda metabólica (gasto energético). Conseqüentemente, a subtração calórica promovida pelo uso de ANC, ou até mesmo a adição de calorias através de açúcares e gorduras, tende a ser proporcionalmente ajustada nas refeições posteriores [181].

Mattes e Popkin [32], em uma recente revisão sobre os efeitos dos ANC na regulação do apetite, concluíram que o uso de ANC geralmente provoca compensação de energia ou compensação excessiva nos ensaios de curto prazo, mas com o uso crônico a compensação tende a se manter estável. Deste modo, verifica-se que uso de ANC não apresenta nenhum benefício para perda de peso sem que haja restrição intencional de calorias.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do uso crônico de sacarina comparativamente ao uso de glicose, frutose ou lipídio na regulação do apetite, no ganho de peso e na composição corporal de ratos Wistar ao longo de 14 semanas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o ganho de peso absoluto do grupo Sacarina comparando-o ao grupo Controle;
- Comparar o ganho de peso do grupo Sacarina em relação aos grupos Frutose, Glicose e Lipídio;
- Comparar o ganho de peso dos grupos Frutose, Glicose e Lipídio entre si e em relação à condição controle;
- Avaliar o efeito intrínseco e cumulativo do uso de sacarina em relação à ingestão calórica de iogurte, de ração e total, corrigidas pelo peso semanal (kcal/g) e compará-lo em relação ao uso de glicose, frutose e lipídio;
- Comparar os padrões de ingestão calórica cumulativa do suplemento de iogurte, de ração e total (kcal/g) entre os grupos Glicose, Frutose e Lipídio, e em relação ao Controle;

- Determinar e colacionar a ingestão hídrica cumulativa, corrigida pelo peso de cada semana (ml/g);
- Avaliar e comparar a composição de massa magra e massa gorda no final do experimento.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Association AD. Position of the American Dietetic Association: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *J Am Diet Assoc* 2004;104:255-75.
- [2] Popkin BM, Nielsen SJ. The sweetening of the world's diet. *Obes Res* 2003;11:1325-32.
- [3] Fowler SP, Williams K, Resendez RG, Hunt KJ, Hazuda HP, Stern MP. Fueling the obesity epidemic? Artificially sweetened beverage use and long-term weight gain. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16:1894-900.
- [4] Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF, Wang TJ, Fox CS, Meigs JB, D'Agostino RB, Gaziano JM, Vasan RS. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation* 2007;116:480-8.
- [5] Lutsey PL, Steffen LM, Stevens J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation* 2008;117:754-61.
- [6] Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, London SJ, Segal MR, Speizer FE. Patterns of weight change and their relation to diet in a cohort of healthy women. *Am J Clin Nutr* 1990;51:1100-5.
- [7] Polyák E, Gombos K, Hajnal B, Bonyár-Müller K, Szabó S, Gubiczkó-Kisbenedek A, Marton K, Ember I. Effects of artificial sweeteners on body weight, food and drink intake. *Acta Physiol Hung* 2010;97:401-7.
- [8] Davidson TL, Martin AA, Clark K, Swithers SE. Intake of high-intensity sweeteners alters the ability of sweet taste to signal caloric consequences: Implications for the learned control of energy and body weight regulation. *Q J Exp Psychol (Colchester)* 2011;64:1430-41.
- [9] Rogers PJ, Carlyle JA, Hill AJ, Blundell JE. Uncoupling sweet taste and calories: comparison of the effects of glucose and three intense sweeteners on hunger and food intake. *Physiol Behav* 1988;43:547-52.
- [10] Swithers SE, Davidson TL. A role for sweet taste: calorie predictive relations in energy regulation by rats. *Behav Neurosci* 2008;122:161-73.
- [11] Marmonier C, Chapelot D, Louis-Sylvestre J. Effects of macronutrient content and energy density of snacks consumed in a satiety state on the onset of the next meal. *Appetite* 2000;34:161-8.
- [12] Blundell JE, Burley VJ, Cotton JR, Lawton CL. Dietary fat and the control of energy intake: evaluating the effects of fat on meal size and postmeal satiety. *Am J Clin Nutr* 1993;57:772S-7S; discussion 7S-8S.
- [13] Astrup A, Grunwald GK, Melanson EL, Saris WH, Hill JO. The role of low-fat diets in body weight control: a meta-analysis of ad libitum dietary intervention studies. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24:1545-52.

- [14] Murphy KG, Bloom SR. Gut hormones and the regulation of energy homeostasis. *Nature* 2006;444:854-9.
- [15] Bouchard C. *Physical activity and obesity*. Champaign: Human Kinetics, 2000.
- [16] Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* 2001;104:531-43.
- [17] Abete I, Astrup A, Martínez JA, Thorsdottir I, Zulet MA. Obesity and the metabolic syndrome: role of different dietary macronutrient distribution patterns and specific nutritional components on weight loss and maintenance. *Nutr Rev* 2010;68:214-31.
- [18] Mattes RD, Hollis J, Hayes D, Stunkard AJ. Appetite: measurement and manipulation misgivings. *J Am Diet Assoc* 2005;105:S87-97.
- [19] Blundell JE, MacDiarmid JI. Fat as a risk factor for overconsumption: satiation, satiety, and patterns of eating. *J Am Diet Assoc* 1997;97:S63-9.
- [20] Gerstein DE, Woodward-Lopez G, Evans AE, Kelsey K, Drewnowski A. Clarifying concepts about macronutrients' effects on satiation and satiety. *J Am Diet Assoc* 2004;104:1151-3.
- [21] Holt SH, Miller JB. Increased insulin responses to ingested foods are associated with lessened satiety. *Appetite* 1995;24:43-54.
- [22] Juvonen KR, Purhonen AK, Karhunen LJ, Herzig KH, Poutanen KS. [Regulation of food intake by gastrointestinal peptides]. *Duodecim* 2009;125:2067-74.
- [23] Karhunen LJ, Juvonen KR, Huotari A, Purhonen AK, Herzig KH. Effect of protein, fat, carbohydrate and fibre on gastrointestinal peptide release in humans. *Regul Pept* 2008;149:70-8.
- [24] Dye L, Blundell J. Functional foods: psychological and behavioural functions. *Br J Nutr* 2002;88 Suppl 2:S187-211.
- [25] Cummings DE, Overduin J. Gastrointestinal regulation of food intake. *J Clin Invest* 2007;117:13-23.
- [26] Blundell JE, Goodson S, Halford JCG. Regulation of appetite: role of leptin in signalling systems for drive and satiety. *International Journal of Obesity* 2001;25:S29-S34.
- [27] Schwartz GJ. The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: current prospects. *Nutrition* 2000;16:866-73.
- [28] Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000;404:661-71.
- [29] Monteleone P, Bencivenga R, Longobardi N, Serritella C, Maj M. Differential responses of circulating ghrelin to high-fat or high-carbohydrate meal in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5510-4.
- [30] Tannous dit El Khoury D, Obeid O, Azar ST, Hwalla N. Variations in postprandial ghrelin status following ingestion of high-carbohydrate, high-fat, and high-protein meals in males. *Ann Nutr Metab* 2006;50:260-9.
- [31] Steinert RE, Frey F, Töpfer A, Drewe J, Beglinger C. Effects of carbohydrate sugars and artificial sweeteners on appetite and the secretion of gastrointestinal satiety peptides. *Br J Nutr* 2011;105:1320-8.
- [32] Mattes RD, Popkin BM. Nonnutritive sweetener consumption in humans: effects on appetite and food intake and their putative mechanisms. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1-14.

- [33] Callahan HS, Cummings DE, Pepe MS, Breen PA, Matthys CC, Weigle DS. Postprandial suppression of plasma ghrelin level is proportional to ingested caloric load but does not predict intermeal interval in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:1319-24.
- [34] Cummings DE. Ghrelin and the short- and long-term regulation of appetite and body weight. *Physiol Behav* 2006;89:71-84.
- [35] Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, Nozoe S, Hosoda H, Kangawa K, Matsukura S. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:240-4.
- [36] Blom WA, Stafleu A, de Graaf C, Kok FJ, Schaafsma G, Hendriks HF. Ghrelin response to carbohydrate-enriched breakfast is related to insulin. *Am J Clin Nutr* 2005;81:367-75.
- [37] Ritter RC. Gastrointestinal mechanisms of satiation for food. *Physiol Behav* 2004;81:249-73.
- [38] Pilichiewicz AN, Little TJ, Brennan IM, Meyer JH, Wishart JM, Otto B, Horowitz M, Feinle-Bisset C. Effects of load, and duration, of duodenal lipid on antropyloroduodenal motility, plasma CCK and PYY, and energy intake in healthy men. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;290:R668-77.
- [39] Bowen J, Noakes M, Trenerry C, Clifton PM. Energy intake, ghrelin, and cholecystinin after different carbohydrate and protein preloads in overweight men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1477-83.
- [40] Little TJ, Doran S, Meyer JH, Smout AJ, O'Donovan DG, Wu KL, Jones KL, Wishart J, Rayner CK, Horowitz M, Feinle-Bisset C. The release of GLP-1 and ghrelin, but not GIP and CCK, by glucose is dependent upon the length of small intestine exposed. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 2006;291:E647-55.
- [41] Herrmann C, Göke R, Richter G, Fehmann HC, Arnold R, Göke B. Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrients. *Digestion* 1995;56:117-26.
- [42] Oesch S, Rüegg C, Fischer B, Degen L, Beglinger C. Effect of gastric distension prior to eating on food intake and feelings of satiety in humans. *Physiol Behav* 2006;87:903-10.
- [43] Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* 2006;443:289-95.
- [44] Leibel RL, Rosenbaum M, Hirsch J. Changes in energy expenditure resulting from altered body weight. *N Engl J Med* 1995;332:621-8.
- [45] 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 (Maywood)* 2001;226:963-77.
- [46] Woods SC, Seeley RJ, Porte D, Schwartz MW. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science* 1998;280:1378-83.
- [47] Morton GJ, Schwartz MW. Leptin and the central nervous system control of glucose metabolism. *Physiol Rev* 2011;91:389-411.
- [48] Benoit SC, Clegg DJ, Seeley RJ, Woods SC. Insulin and leptin as adiposity signals. *Recent Prog Horm Res* 2004;59:267-85.
- [49] Liang Y, Steinbach G, Maier V, Pfeiffer EF. The effect of artificial sweetener on insulin secretion. 1. The effect of acesulfame K on insulin secretion in the rat (studies in vivo). *Horm Metab Res* 1987;19:233-8.

- [50] Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 1995;269:546-9.
- [51] Woods SC, Lotter EC, McKay LD, Porte D. Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature* 1979;282:503-5.
- [52] Blevins JE, Schwartz MW, Baskin DG. Evidence that paraventricular nucleus oxytocin neurons link hypothalamic leptin action to caudal brain stem nuclei controlling meal size. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287:R87-96.
- [53] Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995;83:1263-71.
- [54] Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425-32.
- [55] Foster-Schubert KE, Cummings DE. Emerging therapeutic strategies for obesity. *Endocr Rev* 2006;27:779-93.
- [56] Blundell JE, Green SM. Effect of sucrose and sweeteners on appetite and energy intake. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20 Suppl 2:S12-7.
- [57] Park MI, Camilleri M, O'Connor H, Oenning L, Burton D, Stephens D, Zinsmeister AR. Effect of different macronutrients in excess on gastric sensory and motor functions and appetite in normal-weight, overweight, and obese humans. *Am J Clin Nutr* 2007;85:411-8.
- [58] Prentice AM, Poppitt SD. Importance of energy density and macronutrients in the regulation of energy intake. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20 Suppl 2:S18-23.
- [59] Cotton JR, Burley VJ, Weststrate JA, Blundell JE. Dietary fat and appetite: similarities and differences in the satiating effect of meals supplemented with either fat or carbohydrate. *J Hum Nutr Diet* 2007;20:186-99.
- [60] Warwick ZS. Probing the causes of high-fat diet hyperphagia: a mechanistic and behavioral dissection. *Neurosci Biobehav Rev* 1996;20:155-61.
- [61] Ramirez I, Friedman MI. Dietary hyperphagia in rats: role of fat, carbohydrate, and energy content. *Physiol Behav* 1990;47:1157-63.
- [62] Prentice AM. Manipulation of dietary fat and energy density and subsequent effects on substrate flux and food intake. *Am J Clin Nutr* 1998;67:535S-41S.
- [63] Rolls BJ, Hammer VA. Fat, carbohydrate, and the regulation of energy intake. *Am J Clin Nutr* 1995;62:1086S-95S.
- [64] Leibowitz SF, Dourmashkin JT, Chang GQ, Hill JO, Gayles EC, Fried SK, Wang J. Acute high-fat diet paradigms link galanin to triglycerides and their transport and metabolism in muscle. *Brain Res* 2004;1008:168-78.
- [65] Peters JC. Dietary fat and body weight control. *Lipids* 2003;38:123-7.
- [66] Toubro S, Astrup A. Randomised comparison of diets for maintaining obese subjects' weight after major weight loss: ad lib, low fat, high carbohydrate diet v fixed energy intake. *BMJ* 1997;314:29-34.
- [67] Foreyt JP, Salas-Salvado J, Caballero B, Bulló M, Gifford KD, Bautista I, Serra-Majem L. Weight-reducing diets: are there any differences? *Nutr Rev* 2009;67 Suppl 1:S99-101.

- [68] Lissner L, Levitsky DA, Strupp BJ, Kalkwarf HJ, Roe DA. Dietary fat and the regulation of energy intake in human subjects. *Am J Clin Nutr* 1987;46:886-92.
- [69] Stubbs RJ, Harbron CG, Murgatroyd PR, Prentice AM. Covert manipulation of dietary fat and energy density: effect on substrate flux and food intake in men eating ad libitum. *Am J Clin Nutr* 1995;62:316-29.
- [70] Warwick ZS, Synowski SJ, Bell KR. Dietary fat content affects energy intake and weight gain independent of diet caloric density in rats. *Physiol Behav* 2002;77:85-90.
- [71] Burggraf KK, Willing AE, Koopmans HS. The effects of glucose or lipid infused intravenously or intragastrically on voluntary food intake in the rat. *Physiol Behav* 1997;61:787-93.
- [72] Nauck MA, Homberger E, Siegel EG, Allen RC, Eaton RP, Ebert R, Creutzfeldt W. Incretin effects of increasing glucose loads in man calculated from venous insulin and C-peptide responses. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;63:492-8.
- [73] Rolls BJ, Bell EA, Castellanos VH, Chow M, Pelkman CL, Thorwart ML. Energy density but not fat content of foods affected energy intake in lean and obese women. *Am J Clin Nutr* 1999;69:863-71.
- [74] Bell EA, Castellanos VH, Pelkman CL, Thorwart ML, Rolls BJ. Energy density of foods affects energy intake in normal-weight women. *Am J Clin Nutr* 1998;67:412-20.
- [75] Bray GA, Paeratakul S, Popkin BM. Dietary fat and obesity: a review of animal, clinical and epidemiological studies. *Physiol Behav* 2004;83:549-55.
- [76] Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA* 2004;292:927-34.
- [77] Saris WH. Sugars, energy metabolism, and body weight control. *Am J Clin Nutr* 2003;78:850S-7S.
- [78] Drewnowski A, Bellisle F. Liquid calories, sugar, and body weight. *Am J Clin Nutr* 2007;85:651-61.
- [79] Bandini LG, Vu D, Must A, Cyr H, Goldberg A, Dietz WH. Comparison of high-calorie, low-nutrient-dense food consumption among obese and non-obese adolescents. *Obes Res* 1999;7:438-43.
- [80] Berkey CS, Rockett HR, Field AE, Gillman MW, Colditz GA. Sugar-added beverages and adolescent weight change. *Obes Res* 2004;12:778-88.
- [81] Ludwig DS, Peterson KE, Gortmaker SL. Relation between consumption of sugar-sweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis. *Lancet* 2001;357:505-8.
- [82] Troiano RP, Briefel RR, Carroll MD, Bialostosky K. Energy and fat intakes of children and adolescents in the united states: data from the national health and nutrition examination surveys. *Am J Clin Nutr* 2000;72:1343S-53S.
- [83] Welsh JA, Cogswell ME, Rogers S, Rockett H, Mei Z, Grummer-Strawn LM. Overweight among low-income preschool children associated with the consumption of sweet drinks: Missouri, 1999-2002. *Pediatrics* 2005;115:e223-9.
- [84] Forshee RA, Storey ML. Total beverage consumption and beverage choices among children and adolescents. *Int J Food Sci Nutr* 2003;54:297-307.

- [85] Blum JW, Jacobsen DJ, Donnelly JE. Beverage consumption patterns in elementary school aged children across a two-year period. *J Am Coll Nutr* 2005;24:93-8.
- [86] Kvaavik E, Andersen LF, Klepp KI. The stability of soft drinks intake from adolescence to adult age and the association between long-term consumption of soft drinks and lifestyle factors and body weight. *Public Health Nutr* 2005;8:149-57.
- [87] Malik VS, Schulze MB, Hu FB. Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2006;84:274-88.
- [88] Bolton-Smith C, Woodward M. Dietary composition and fat to sugar ratios in relation to obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1994;18:820-8.
- [89] Stanhope KL, Griffen SC, Bair BR, Swarbrick MM, Keim NL, Havel PJ. Twenty-four-hour endocrine and metabolic profiles following consumption of high-fructose corn syrup-, sucrose-, fructose-, and glucose-sweetened beverages with meals. *Am J Clin Nutr* 2008;87:1194-203.
- [90] Tappy L, Lê KA. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev* 2010;90:23-46.
- [91] Hanover LM, White JS. Manufacturing, composition, and applications of fructose. *Am J Clin Nutr* 1993;58:724S-32S.
- [92] Moran TH, McHugh PR. Distinctions among three sugars in their effects on gastric emptying and satiety. *Am J Physiol* 1981;241:R25-30.
- [93] Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev* 2005;63:133-57.
- [94] Drozdowski LA, Thomson AB. Intestinal sugar transport. *World J Gastroenterol* 2006;12:1657-70.
- [95] Kneepkens CM, Vonk RJ, Fernandes J. Incomplete intestinal absorption of fructose. *Arch Dis Child* 1984;59:735-8.
- [96] Ravich WJ, Bayless TM, Thomas M. Fructose: incomplete intestinal absorption in humans. *Gastroenterology* 1983;84:26-9.
- [97] Truswell AS, Seach JM, Thorburn AW. Incomplete absorption of pure fructose in healthy subjects and the facilitating effect of glucose. *Am J Clin Nutr* 1988;48:1424-30.
- [98] Cui XL, Schlesier AM, Fisher EL, Cerqueira C, Ferraris RP. Fructose-induced increases in neonatal rat intestinal fructose transport involve the PI3-kinase/Akt signaling pathway. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005;288:G1310-20.
- [99] Ferraris RP, Hsiao J, Hernandez R, Hirayama B. Site density of mouse intestinal glucose transporters declines with age. *Am J Physiol* 1993;264:G285-93.
- [100] Perin N, Keelan M, Jarocka-Cyrta E, Clandinin MT, Thomson AB. Ontogeny of intestinal adaptation in rats in response to isocaloric changes in dietary lipids. *Am J Physiol* 1997;273:G713-20.
- [101] Teff KL, Elliott SS, Tschöp M, Kieffer TJ, Rader D, Heiman M, Townsend RR, Keim NL, D'Alessio D, Havel PJ. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2963-72.
- [102] Havel P. Glucose but not fructose infusion increases circulating leptin in proportion to adipose stores in rhesus monkeys. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 1997:37-8.

- [103] Elliott SS, Keim NL, Stern JS, Teff K, Havel PJ. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr* 2002;76:911-22.
- [104] Feinle C, O'Donovan D, Horowitz M. Carbohydrate and satiety. *Nutr Rev* 2002;60:155-69.
- [105] Rodin J. Comparative effects of fructose, aspartame, glucose, and water preloads on calorie and macronutrient intake. *Am J Clin Nutr* 1990;51:428-35.
- [106] Rodin J, Reed D, Jamner L. Metabolic effects of fructose and glucose: implications for food intake. *Am J Clin Nutr* 1988;47:683-9.
- [107] Spitzer L, Rodin J. Effects of fructose and glucose preloads on subsequent food intake. *Appetite* 1987;8:135-45.
- [108] Stewart SL, Black RM, Wolever TMS, Anderson GH. The relationship between the glycaemic response to breakfast cereals and subjective appetite and food intake. *Nutrition Research* 1997;17:1249-60.
- [109] Erlanson-Albertsson C, Lindqvist A. Fructose affects enzymes involved in the synthesis and degradation of hypothalamic endocannabinoids. *Regul Pept* 2010;161:87-91.
- [110] Lindqvist A, Baelemans A, Erlanson-Albertsson C. Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. *Regul Pept* 2008;150:26-32.
- [111] Bizeau ME, Pagliassotti MJ. Hepatic adaptations to sucrose and fructose. *Metabolism* 2005;54:1189-201.
- [112] Lê KA, Tappy L. Metabolic effects of fructose. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006;9:469-75.
- [113] Yang Q. Gain weight by "going diet?" Artificial sweeteners and the neurobiology of sugar cravings: *Neuroscience* 2010. *Yale J Biol Med* 2010;83:101-8.
- [114] Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr* 2004;79:537-43.
- [115] Newgard CB, McGarry JD. Metabolic coupling factors in pancreatic beta-cell signal transduction. *Annu Rev Biochem* 1995;64:689-719.
- [116] Vozzo R, Baker B, Wittert GA, Wishart JM, Morris H, Horowitz M, Chapman I. Glycemic, hormone, and appetite responses to monosaccharide ingestion in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2002;51:949-57.
- [117] Kong MF, Chapman I, Goble E, Wishart J, Wittert G, Morris H, Horowitz M. Effects of oral fructose and glucose on plasma GLP-1 and appetite in normal subjects. *Peptides* 1999;20:545-51.
- [118] de Graaf C, Blom WA, Smeets PA, Stafleu A, Hendriks HF. Biomarkers of satiation and satiety. *Am J Clin Nutr* 2004;79:946-61.
- [119] MAYER J. Glucostatic mechanism of regulation of food intake. *N Engl J Med* 1953;249:13-6.
- [120] 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* 1998;275:G797-804.
- [121] Raben A, Holst JJ, Christensen NJ, Astrup A. Determinants of postprandial appetite sensations: macronutrient intake and glucose metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20:161-9.

- [122] Stubbs RJ. Peripheral signals affecting food intake. *Nutrition* 1999;15:614-25.
- [123] Ludwig DS. The glycemic index: physiological mechanisms relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease. *JAMA* 2002;287:2414-23.
- [124] Willett W. *Eat, drink, and be healthy: The Harvard Medical School guide to healthy eating*. New York: Simon & Shuster, 2001.
- [125] Pawlak DB, Kushner JA, Ludwig DS. Effects of dietary glycaemic index on adiposity, glucose homeostasis, and plasma lipids in animals. *Lancet* 2004;364:778-85.
- [126] Ludwig DS, Majzoub JA, Al-Zahrani A, Dallal GE, Blanco I, Roberts SB. High glycemic index foods, overeating, and obesity. *Pediatrics* 1999;103:E26.
- [127] Pawlak DB, Bryson JM, Denyer GS, Brand-Miller JC. High glycemic index starch promotes hypersecretion of insulin and higher body fat in rats without affecting insulin sensitivity. *J Nutr* 2001;131:99-104.
- [128] Bouché C, Rizkalla SW, Luo J, Vidal H, Veronese A, Pacher N, Fouquet C, Lang V, Slama G. Five-week, low-glycemic index diet decreases total fat mass and improves plasma lipid profile in moderately overweight nondiabetic men. *Diabetes Care* 2002;25:822-8.
- [129] Ludwig DS. Dietary glycemic index and the regulation of body weight. *Lipids* 2003;38:117-21.
- [130] Jenkins DJ, Kendall CW, Augustin LS, Franceschi S, Hamidi M, Marchie A, Jenkins AL, Axelsen M. Glycemic index: overview of implications in health and disease. *Am J Clin Nutr* 2002;76:266S-73S.
- [131] Radulian G, Rusu E, Dragomir A, Posea M. Metabolic effects of low glycaemic index diets. *Nutr J* 2009;8:5.
- [132] Pereira MA, Swain J, Goldfine AB, Rifai N, Ludwig DS. Effects of a low-glycemic load diet on resting energy expenditure and heart disease risk factors during weight loss. *JAMA* 2004;292:2482-90.
- [133] Raben A. Should obese patients be counselled to follow a low-glycaemic index diet? *No. Obes Rev* 2002;3:245-56.
- [134] Bornet FR, Jardy-Gennetier AE, Jacquet N, Stowell J. Glycaemic response to foods: impact on satiety and long-term weight regulation. *Appetite* 2007;49:535-53.
- [135] Ludwig DS. Artificially sweetened beverages: cause for concern. *JAMA* 2009;302:2477-8.
- [136] Arsenault JE, Cline AD. Nutrient intakes and characteristics of normal weight, female military personnel consuming foods reduced in fat or energy content. *Appetite* 2000;34:227-33.
- [137] Rogers PJ. Eating habits and appetite control: a psychobiological perspective. *Proc Nutr Soc* 1999;58:59-67.
- [138] Raben A, Vasilaras TH, Møller 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* 2002;76:721-9.
- [139] Stellanman SD, Garfinkel L. Artificial sweetener use and one-year weight change among women. *Prev Med* 1986;15:195-202.

- [140] Ebbeling CB, Feldman HA, Osganian SK, Chomitz VR, Ellenbogen SJ, Ludwig DS. Effects of decreasing sugar-sweetened beverage consumption on body weight in adolescents: a randomized, controlled pilot study. *Pediatrics* 2006;117:673-80.
- [141] Kauffman GB, Priebe PM. The discovery of saccharin: a centennial retrospect. *Ambix* 1978;25:191-207.
- [142] Cohen SM. Saccharin: past, present, and future. *J Am Diet Assoc* 1986;86:929-31.
- [143] de la Peña C. Artificial sweetener as a historical window to culturally situated health. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1190:159-65.
- [144] Pavlov I. Conditioned reflexes. New York: Oxford University Press, 1927.
- [145] Rogers PJ, Blundell JE. Separating the actions of sweetness and calories: effects of saccharin and carbohydrates on hunger and food intake in human subjects. *Physiol Behav* 1989;45:1093-9.
- [146] Jang HJ, Kokrashvili Z, Theodorakis MJ, Carlson OD, Kim BJ, Zhou J, Kim HH, Xu X, Chan SL, Juhaszova M, Bernier M, Mosinger B, Margolskee RF, Egan JM. Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:15069-74.
- [147] Malaisse WJ, Vanonderbergen A, Louchami K, Jijakli H, Malaisse-Lagae F. Effects of artificial sweeteners on insulin release and cationic fluxes in rat pancreatic islets. *Cell Signal* 1998;10:727-33.
- [148] Just T, Pau HW, Engel U, Hummel T. Cephalic phase insulin release in healthy humans after taste stimulation? *Appetite* 2008;51:622-7.
- [149] Ionescu E, Rohner-Jeanrenaud F, Proietto J, Rivest RW, Jeanrenaud B. Taste-induced changes in plasma insulin and glucose turnover in lean and genetically obese rats. *Diabetes* 1988;37:773-9.
- [150] Berthoud HR, Trimble ER, Siegel EG, Bereiter DA, Jeanrenaud B. Cephalic-phase insulin secretion in normal and pancreatic islet-transplanted rats. *Am J Physiol* 1980;238:E336-40.
- [151] Li X, Staszewski L, Xu H, Durick K, Zoller M, Adler E. Human receptors for sweet and umami taste. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:4692-6.
- [152] Nakagawa Y, Nagasawa M, Yamada S, Hara A, Mogami H, Nikolaev VO, Lohse MJ, Shigemura N, Ninomiya Y, Kojima I. Sweet taste receptor expressed in pancreatic beta-cells activates the calcium and cyclic AMP signaling systems and stimulates insulin secretion. *PLoS One* 2009;4:e5106.
- [153] Sutherland K, Young RL, Cooper NJ, Horowitz M, Blackshaw LA. Phenotypic characterization of taste cells of the mouse small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007;292:G1420-8.
- [154] K. S, M. BS, M. H, K. RC, A. BL, L. YR. Sweet taste transduction molecules are expressed in the upper gastrointestinal tract in humans. *Gastroenterology* 2007;4(Suppl. 2).
- [155] Nelson G, Hoon MA, Chandrashekar J, Zhang Y, Ryba NJ, Zuker CS. Mammalian sweet taste receptors. *Cell* 2001;106:381-90.
- [156] Ohta K, Masuda T, Tani F, Kitabatake N. The cysteine-rich domain of human T1R3 is necessary for the interaction between human T1R2-T1R3 sweet receptors and a sweet-tasting protein, thaumatin. *Biochem Biophys Res Commun* 2011;406:435-8.

- [157] Vignes S, Dotson CD, Munger SD. The receptor basis of sweet taste in mammals. *Results Probl Cell Differ* 2009;47:187-202.
- [158] Al-Saleh AM, Corkey B, Deeney J, Tornheim K, Bauer E. Effect of artificial sweeteners on insulin secretion, ROS, and oxygen consumption in pancreatic beta cells. *FACEB Journal*. March 17, 2011.
- [159] Margolskee RF, Dyer J, Kokrashvili Z, Salmon KS, Ilegems E, Daly K, Maillet EL, Ninomiya Y, Mosinger B, Shirazi-Beechey SP. T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na⁺-glucose cotransporter 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:15075-80.
- [160] Fujita Y, Wideman RD, Speck M, Asadi A, King DS, Webber TD, Haneda M, Kieffer TJ. Incretin release from gut is acutely enhanced by sugar but not by sweeteners in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;296:E473-9.
- [161] Moriya R, Shirakura T, Ito J, Mashiko S, Seo T. Activation of sodium-glucose cotransporter 1 ameliorates hyperglycemia by mediating incretin secretion in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;297:E1358-65.
- [162] Smeets PA, Weijzen P, de Graaf C, Viergever MA. Consumption of caloric and non-caloric versions of a soft drink differentially affects brain activation during tasting. *Neuroimage* 2011;54:1367-74.
- [163] Brown RJ, de Banate MA, Rother KI. Artificial sweeteners: a systematic review of metabolic effects in youth. *Int J Pediatr Obes* 2010;5:305-12.
- [164] Mela DJ. Eating for pleasure or just wanting to eat? Reconsidering sensory hedonic responses as a driver of obesity. *Appetite* 2006;47:10-7.
- [165] Yao M, Roberts SB. Dietary energy density and weight regulation. *Nutr Rev* 2001;59:247-58.
- [166] Rolls BJ. The relationship between dietary energy density and energy intake. *Physiol Behav* 2009;97:609-15.
- [167] Drewnowski A. Energy density, palatability, and satiety: implications for weight control. *Nutr Rev* 1998;56:347-53.
- [168] Poppitt SD, Prentice AM. Energy density and its role in the control of food intake: evidence from metabolic and community studies. *Appetite* 1996;26:153-74.
- [169] Rolls BJ. The role of energy density in the overconsumption of fat. *J Nutr* 2000;130:268S-71S.
- [170] Drewnowski A. Intense sweeteners and energy density of foods: implications for weight control. *Eur J Clin Nutr* 1999;53:757-63.
- [171] Bell EA, Rolls BJ. Energy density of foods affects energy intake across multiple levels of fat content in lean and obese women. *Am J Clin Nutr* 2001;73:1010-8.
- [172] Howarth NC, Murphy SP, Wilkens LR, Hankin JH, Kolonel LN. Dietary energy density is associated with overweight status among 5 ethnic groups in the multiethnic cohort study. *J Nutr* 2006;136:2243-8.
- [173] Stubbs RJ, Johnstone AM, Harbron CG, Reid C. Covert manipulation of energy density of high carbohydrate diets in 'pseudo free-living' humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998;22:885-92.
- [174] Mazlan N, Horgan G, Stubbs RJ. Energy density and weight of food effect short-term caloric compensation in men. *Physiol Behav* 2006;87:679-86.

- [175] Rowland NE, Nasrallah N, Robertson KL. Accurate caloric compensation in rats for electively consumed ethanol-beer or ethanol-polycose mixtures. *Pharmacol Biochem Behav* 2005;80:109-14.
- [176] Westerterp-Plantenga MS. Effects of energy density of daily food intake on long-term energy intake. *Physiol Behav* 2004;81:765-71.
- [177] de Castro JM. Dietary energy density is associated with increased intake in free-living humans. *J Nutr* 2004;134:335-41.
- [178] Canty DJ, Chan MM. Effects of consumption of caloric vs noncaloric sweet drinks on indices of hunger and food consumption in normal adults. *Am J Clin Nutr* 1991;53:1159-64.
- [179] Rolls BJ, Kim S, Fedoroff IC. Effects of drinks sweetened with sucrose or aspartame on hunger, thirst and food intake in men. *Physiol Behav* 1990;48:19-26.
- [180] Drewnowski A, Massien C, Louis-Sylvestre J, Fricker J, Chapelot D, Apfelbaum M. Comparing the effects of aspartame and sucrose on motivational ratings, taste preferences, and energy intakes in humans. *Am J Clin Nutr* 1994;59:338-45.
- [181] Bellisle F, Drewnowski A. Intense sweeteners, energy intake and the control of body weight. *Eur J Clin Nutr* 2007;61:691-700.

5. ARTIGO

THE CHRONIC USE OF SACCHARIN PROMOTES GREATER WEIGHT GAIN,
BEING SIMILAR TO THE USE OF GLUCOSE, FRUCTOSE OR LIPID

Authors:

Kelly C. Foletto^a, Bruna A. M. Batista^b, Alice M. Neves^b, Fernanda de M. Feijó^a,
Cíntia Reis^a, Maria Flávia M. Ribeiro^b, Marcello C. Bertoluci^{a,c}

^a[Postgraduate Program in Medicine Sciences: Medical College, UFRGS](#)

2400 Ramiro Barcelos St. Zip Code 90035-003. Porto Alegre, RS, Brazil

^b[Department of Physiology, ICBS, UFRGS](#)

500 Sarmiento Leite St. Zip Code 90050-170, Porto Alegre, RS, Brazil

^c[Internal Medicine Service of HCPA, UFRGS](#)

2350 Ramiro Barcelos St. Zip Code 90035-903. Porto Alegre, RS, Brazil

Word count: 3306

Number of tables: 2

Number of figures: 5

Total pages: 24

Corresponding author: Marcello Casaccia Bertoluci

Internal Medicine Service of HCPA, UFRGS

2350 Ramiro Barcelos St. Zip Code 90035-903. Porto Alegre, RS, Brazil

Phone/Fax: + 55 51 3359 8152

e-mail address: mbertoluci@uol.com.br

Formatado para submissão na revista Physiology & Behavior.

Abstract

Background: There are evidences that the use of saccharin can interfere on appetite regulation, causing higher food intake, greater weight gain and adiposity when compared to using glucose or sucrose. Thus, this study intends examining the effect of saccharin in comparison to the control condition, glucose, fructose and lipid, in addition to evaluating the effect between each of the elements. **Methods:** We conducted a controlled experiment for 14 weeks involving 40 male Wistar rats randomly divided into 5 groups: Control (20ml of plain yogurt, 75 kcal/wk), Saccharin (.3%, 75 kcal/wk), Glucose (20%, 139 kcal/wk), Fructose (20%, 139 kcal/wk) and Lipid (9%, 139 kcal/wk). Beyond diet of yogurt, the rats received chow and water *ad libitum*. We carried out daily control of food and water intake, and weekly body weight. In the end of experiment we assessed the composition of lean and fat mass. Data analysis was performed with SPSS version 17, we used linear mixed model (LMM) for longitudinal measures and ANOVA with Tukey's test for single measures. **Results:** There was caloric compensation among intake of yogurt diets and chow, so that the total cumulative caloric intake (kcal/g) did not differ between groups ($p = .42$). The groups also had water intake (ml/g) ($p = .27$) and body composition ($p = .13$) similar. However, the use of saccharin promoted greater weight gain than the control ($p = .035$), being similar to the use of glucose ($p = .06$), lipid ($p = .76$) and fructose ($p = .38$). Lipid ($p = .016$) and Glucose ($p < .001$) groups also gained more weight than the Control, though, the Fructose group did not differ statistically from this ($p = .22$) but was lower than the Glucose group ($p = .006$), only. **Conclusion:** Whatever type of supplementation, appetite regulation appears to be dependent on calorie intake, being proportional to body weight, as well as water intake. Nevertheless, the chronic use of saccharin demonstrated to promote greater weight gain, which was similar to the use of lipid, glucose or fructose. Already, the Fructose group had intermediate weight gain, differing only Glucose group. Although there are differences in weight gain, the estimate of lean mass and fat was similar between groups. Additional studies are needed to elucidate other mechanisms, which, regardless of caloric intake would be involved in more weight gain of chronic use of saccharin.

Keywords: glucose, fructose, saccharin, lipid, energy intake, weight gain

1. Introduction

According to the American Dietetic Association (ADA) [1], those who desire to maintain the fresh taste of foods without adding calories, can opt for the replacement of sugars by nonnutritive sweeteners (NNS) as an adjuvant measure in the management of body weight.

Global consumption of NNS has grown significantly over the past three decades, coinciding with the increase of incidence and prevalence of overweight and obesity [2]. Recent epidemiological studies suggested that the use of products containing NNS is positively correlated with the incidence of overweight and obesity [3, 4], type 2 diabetes mellitus (T2DM), cardiovascular disease and metabolic syndrome [5, 6], although it should be considered that, due to methodological characteristics, these associations can not predict a cause and effect relationship.

Though, the hypothesis that the use of NNS, including saccharin, could interfere in the regulation of appetite and induce weight gain has been demonstrated in some experimental studies and randomized clinical trials [7-9].

Swithers and Davidson [10] conducted a series of controlled experiments demonstrating that the use of saccharin resulted in reduced ability to compensate calories, providing a higher total caloric intake, greater weight gain and adiposity, when compared to the use of glucose.

Using a similar dietary protocol, a preliminary study (unpublished data) performed by our group, found that the use of saccharin ($p = .005$) or aspartame ($p = .048$) for 12 weeks led to a greater weight gain when compared to the use of sucrose. Though, in the absence of a control group (inert), it was not possible to determine whether saccharin was contributing to greater weight gain independently or whether this effect was due to lower weight gain of sucrose. Furthermore the chemical composition of

sucrose (fructose or glucose) could also be important factors in determining relative less weight gain in relation to saccharin. There was also found that the weight gain was not justified by caloric intake, inasmuch as the groups had the same total caloric intake.

This study also contemplated to include the use of a non-carbohydrate caloric control such as lipid, because it is well known that among macronutrient that they have the lowest power of satiety [11], leading thus to excessive caloric intake [12] and subsequent weight gain [13].

Therefore, the main objective of this study was to evaluate the isolated impact of chronic use of saccharin on weight gain and appetite regulation in comparison to the control condition, and the use of different macronutrients such as glucose, fructose or lipid.

2. Materials and methods

2.1. Animals

Experiments were conducted with 40 adult male Wistar rats (8 per group), 72 days old, weighing on average 300g at the start of the experiment. Animals were randomized so that mean baseline weight was similar between groups. They were housed into individual transparent acrylic cages in a room of colonization with controlled humidity (65-70%) and ventilation, and maintained through a 12 light-dark cycles with lights on at 7:00_{AM} and temperature of $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$. At the end of the experiment, after 12-14h fasting, animals were placed for 1min in a CO₂ chamber and were killed by decapitation. Experimental procedures were conducted in accordance with the guidelines of the National Research Council for the Care and Use of Laboratory Animals [14] and in accordance with the Brazilian Law for the Scientific

Use of Animals. Study protocols were approved by the Ethics Committee for Experimental Procedures of HCPA, Porto Alegre, Brazil.

2.2. Dietetic treatment

All rats received daily water and standard chow *ad lib* (Nuvital CR-1, NuvilabTM), every 24h during the 14 weeks of experiment. The animals were randomly divided into 5 experimental groups and received yogurt supplemented according to either group (Table 1).

For the preparation of diets we used 20ml of plain yogurt (Petropolis Cooperative Agropecuary Ltd), and added 20% glucose (VetecTM), 20% fructose (VetecTM), 9% soy oil (PrimorTM) or 0.3% saccharin (FinnTM), according to Swithers's protocol [10]. During preparation, 10ml of pure water was added in all yogurt diets to facilitate the dilution of supplements and adjust the viscosity. Yogurts were offered in a special bottles with beaks adapted for possible leakage, and were available 22h daily. The control of food intake (yogurt diets and chow) and water intake was conducted daily through electronic balance of precision (AS 5500, MarteTM). The researchers were blinded in relation to groups. Rats who ate less than 70% of the yogurt diets offered were excluded from the study.

2.3. Weight gain and body composition

Weight was measured weekly in electronic precision scale, suitable for weighing animals in motion (AS 5500, MarteTM). Weight gain was defined as the difference of weight in a week period. Cumulative weight gain was defined as the difference of weight between the 14th week and baseline.

Body composition was determined by estimating the fat mass, represented by the weight (g) of the interescapular brown adipose tissue (BAT) added to white adipose tissue (WAT) (epididymal and retroperitoneal). The lean mass was represented by the sum of the weight (g) of the gastrocnemius skeletal muscle (unilateral) and the cardiac muscle [15], all of them removed and weighed in precision balance milesimal (M163, Bel Engineering™) immediately after sacrificing the animals.

2.4. Statistical analysis

We used the SPSS™ software version 17 (IBM Corporation, Somers, NY) for statistical analyses. Initially was proceeded an exploratory analysis in order to verify the behavior of subjects over the time. Linear mixed models [16-18] with random slopes and weekly measurement as a repeated effect were applied to cumulative weight gain, cumulative water intake, cumulative caloric intake of yogurt, of chow and total over time. All measures of intake were corrected by the corresponding weight of each week. In these analyses the basal weight was used as a covariate, the fixed effects in the model were the groups and the interaction group*weeks; subjects and weeks were treated as a random effect. Was used structure covariance type diagonal for the cumulative weight gain, and for the other variables was used the type first-order autoregressive [AR(1)].

The body composition (lean mass and fat mass), the basal weight and percentage of intake of yogurt diets were compared using ANOVA and Tukey's adjustment was used for multiple comparisons, when necessary. Normality assumptions were tested by the Kolmogorov-Smirnov, with Lilliefors significance correction, and Shapiro-Wilk statistic. Reported values are means (SE), and $p < .05$ was taken as significant for all analyses.

3. Results

3.1. Cumulative weight gain

The body weight did not differ between groups at the start of the experiment, $F(4, 35) = .18$, $p = .95$, (305.35 ± 4.38) . Over the 14 weeks, there was a quadratic effect of cumulative weight gain, which varied considerably in magnitude and timing among groups, $F(4, 241.44) = 4.38$, $p = .002$. Saccharin ($p = .035$) presented weight gain more pronounced in relation to Control and was similar to Glucose ($p = .06$), Lipid ($p = .76$) and Fructose ($p = .38$). Additional analysis showed that the Glucose ($p < .001$) and Lipid groups ($p = .016$) also gained more weight than Control, while Fructose group ($p = .22$) did not differ from this, but had weight gain less than the Glucose group ($p = .006$) (Fig. 1).

3.2. Energy intake

All rats ate more than 70% of the yogurt diet, with average intake of 91% (1.24), $F(4, 35) = 2.39$, $p = .07$. The energy intake of yogurt diets was higher in the groups: Glucose ($p < .001$), Fructose ($p < .001$) and Lipid ($p < .001$), which did not differ amongst each. The Saccharin group presented similar intake in relation to Control ($p = .45$), and lower intake than Glucose ($p < .001$), Fructose ($p < .001$) and Lipid ($p < .001$), $F(4, 36.02) = 54.04$, $p < .001$ (Fig. 2A).

Conversely, Glucose ($p < .001$), Fructose ($p < .001$) and Lipid ($p = .003$) had a lower energy intake of chow, whereas the Saccharin group ingested the same quantity of chow than the Control ($p = .44$), being different from Glucose ($p < .001$), Fructose ($p < .001$) and Lipid ($p = .02$). The Lipid group consumed more chow than their isoenergetic counterparts Glucose ($p = .028$) and Fructose ($p = .037$), $F(4, 39.90) = 12.8$, $p < .001$ (Fig. 2B). Therefore, the total energy intake (chow plus yogurt diets)

corrected by the weight weekly was similar between all groups, $F(4, 38.81) = 1, p = .42$ (Fig. 2C).

3.3. Water intake

The groups did not show significant difference in relation to cumulative water intake corrected by the weight weekly $F(4, 37.01) = .27, p = .89$ (Fig. 3).

3.4. Body composition

The groups showed no significant differences in the weight of fat mass $F(4, 35) = .19, p = .94$ or lean mass $F(4, 35) = 1.89, p = .13$ (Table 2).

4. Discussion

Referring to the regulation of appetite, these results suggest that the caloric content, irrespective of dietary compounds (saccharin, glucose, fructose or lipid) plays a key role in the modulation of energy intake. It was reported that when animals are fed nutrients in varying dilutions, they adjust their intake to maintain constancy of the number of calories that are consumed, not the volume [19]. Thus, the calories subtracted by the use of NNS can be replaced over time by other energy sources [20], promoting the homeostasis of the energy balance (EB).

The caloric compensation was also demonstrated in experimental and clinical studies [7, 21-24], while others showed a weak compensation of saccharin, leading to the increased caloric intake [8, 10].

On the other hand, studies suggest that lipids have a lower power of satiety [11, 13] and can lead to a "passive overconsumption" [12, 25]. Warwick found that the consumption of a diet high in fat is often associated with greater caloric intake and

weight gain when compared to a low-fat diet or with carbohydrate content the same energy density [26].

Though, in the present study, the use of lipid did not promote higher energy intake, but even so contributed to the higher weight gain. In accordance to our results, a meta-analysis concluded that only a reduction of dietary fat, without intentional restriction in caloric intake, is already able to result in weight loss [13].

Despite the evidences that fructose can induce to weight gain, increased food intake and dyslipidemia [27-30]. In the present study, the weight gain of Fructose group did not differ statistically from the Control neither the Saccharin group, but was lower than the Glucose group (Fig. 1). This difference may be associated with lower absorption of fructose in rodents [31, 32] or by the metabolic differences between glucose and fructose [33, 34].

The glucose is a potent stimulator of orexigenic peptides [35, 36], but their high glycemic index (GI) contributes to acute changes in plasma glucose concentrations, that are associated with reciprocal changes in sensations involving appetite [37, 38]. Some studies suggest that prolonged consumption of high GI foods contributes to weight gain, increased adiposity and favors the development of T2DM [39-41]. These evidences may explain the greater weight gain in the Glucose group compared to the Control and Fructose groups.

Despite following the same dietary protocol, our results did not reproduce the finding of Swithers [10], which demonstrated that the group supplemented with glucose had lower weight gain than the group supplemented with saccharin. This difference between the two studies may be due to the intervention time, seeing that, in the study of Swithers the follow-up was only 5 weeks.

Furthermore, in another previous study conducted by our group (unpublished data), the use of saccharin for 12 weeks promoted higher weight gain compared to the use of sucrose, despite both groups also compensate in the chow intake the excess/deficit of yogurt supplementation. Despite the caloric compensation also have been replicated, was observed that sucrose and its sub-components have different effects on body weight, since in the present study the highest weight gain of group supplemented with saccharin did not differ significantly from the use of glucose and fructose.

It is suggested that saccharin may promote weight gain [4] resulting from decreased satiety [42]. However, experimental studies showed, in addition to increased caloric intake and weight gain, decreased thermal response and increased adiposity [10, 43] with the use of saccharin. Similar to results of the present study, Polyák [7] also found greater weight gain with the use of saccharin and other NNS, but no difference in regard to total energy intake.

Multiple neuroendocrine mechanisms have been proposed to explain the association between the use of NNS and regulation of EB [44]. Most studies support the hypothesis that NNS imply the dissociation between the perception of sweet taste and caloric intake subsequent, leading to greater energy consumption and consequent weight gain [8].

There is evidence that the sweet taste induces the secretion of insulin, independent of the energy content or blood glucose [45-49]. It is suggested that this effect is due to stimulation of taste receptors T1R2/T1R3 in the gut [50, 51], of which seem to respond to several NNS as saccharin, acesulfame-K and sucralose [52]. Thus, the use of saccharin result in low blood glucose levels associated with increased secretion of insulin, which could result in potentiation of glucose uptake, leading to

weight gain. Furthermore, the hyperinsulinemia is considered an independent risk factor for weight gain [53].

At the central level was shown that the NNS not stimulate regions that lead to satiety, but produce pleasant effects, showing activity in the reward system [54]. At the peripheral level, was demonstrated that the NNS does not stimulate secretion of GLP-1 and PYY, or suppress the secretion of ghrelin [55], suggesting that the absence of post-ingestive mechanisms, the NNS has no effect on satiety, or on ratings of hunger.

Although there is no consensus or conclusive results on the effects of saccharin in regulating physiological and metabolic EB, recent reviews suggest that its isolated use could not promote weight reduction, without intentional reduction of total energy intake [44, 56]. However, this study showed that weight gain promoted by the use of saccharin may involve factors independent of caloric intake.

Considerations regarding the amount of lean mass/fat should be interpreted with criterion, inasmuch as this study has limitations regarding the measurement technique, which is subject to measurement bias. More accurate techniques are described in scientific literature [57-59].

In conclusion, these results suggest that the energy content of food plays key role in modulation of appetite, so that the calories subtracted by the use of saccharin were exactly compensated by the increased of chow intake. Although the saccharin does not change the appetite regulation, their chronic use promoted greater weight gain, being similar to the use of lipid or other caloric sweeteners, such as glucose and fructose.

Thus, the use of saccharin as measured in body weight control should be considered, since it can lead to excessive weight gain independent of food intake.

Future perspectives that include elucidating the mechanisms by which saccharin induces greater weight gain should be analyzed.

Abbreviations

ANOVA: analysis of variance; AR(1): covariance type first-order autoregressive; BAT: brown adipose tissue; T2DM: type 2 diabetes mellitus; EB: energy balance; GI: glycemic index; GLP-1: glucagon-like peptide 1; LMM: linear mixed model; NNS: nonnutritive sweeteners; PYY: peptide yy; SE: standard error; WAT: white adipose tissue

Competing interests

The authors declare not having any personal or financial support or involvement with organizations with financial interest in the subject matter or any actual or potential conflict of interest.

Acknowledgements

Project supported by a research grant from CAPES, FAPERGS and BIC/UFRGS.

This study received financial support from the FIPE/HCPA and yogurts donation from Petropolis Cooperative Agropecuary Ltd (PIÁTM), Food Industry.

We are also grateful to Suzy Alves Camey and Sídia Callegari Jacques by assistance in statistical analysis and writing of these data.

Table 1

Composition and management of the yogurt diets in according to groups

	Control (n=8)	Saccharin (n=8)	Glucose (n=8)	Fructose (n=8)	Lipid (n=8)
plainyogurt	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml	20 ml
addition (%)	NA	saccharin (0.3%)	glucose (20%)	fructose (20%)	soy oil (9%)
kcal/week	75 [#]	75 [#]	139 [‡]	139 [‡]	139 [‡]
times a week	5	5 [†]	5 [†]	5 [†]	5 [†]

†: The yogurt was administered Monday to Friday. But, alternately (Tuesday or Wednesday or Thursday), these groups received plain yogurt, without adding the respective supplement

#, ‡: Isoenergetic amongst each

NA: Not applicable

Table 2

Body composition in grams at the end of 14 weeks

	Control	Saccharin	Glucose	Fructose	Lipid
Fat Mass	14.49 (1.52)	15.44 (1.47)	14.74 (1.02)	14.49 (1.12)	15.77 (1.45)
Lean Mass	2.71 (.08)	2.70 (.08)	2.71 (.07)	2.50 (.09)	2.85 (.12)

Values are means (SE), n = 8 per group; ANOVA. There was no significance difference between the groups.

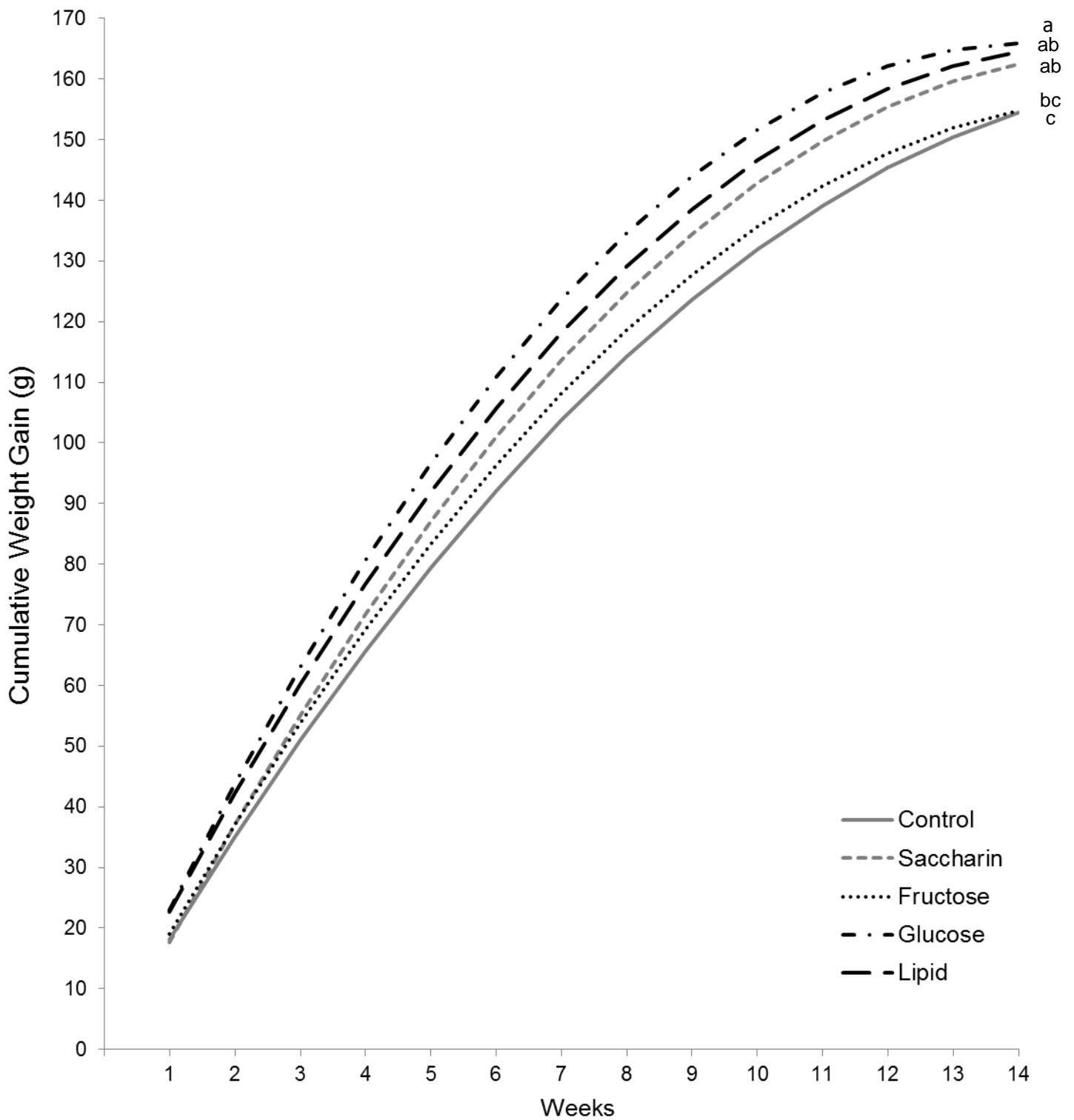


Fig. 1: Cumulative weight gain (g) over the 14 weeks, determined by linear mixed model using the quadratic model. “bc” vs. “a” and “ab” vs. “c”, $p < .05$; “a” vs. “c”, $p < .001$ ($n = 8$ per group).

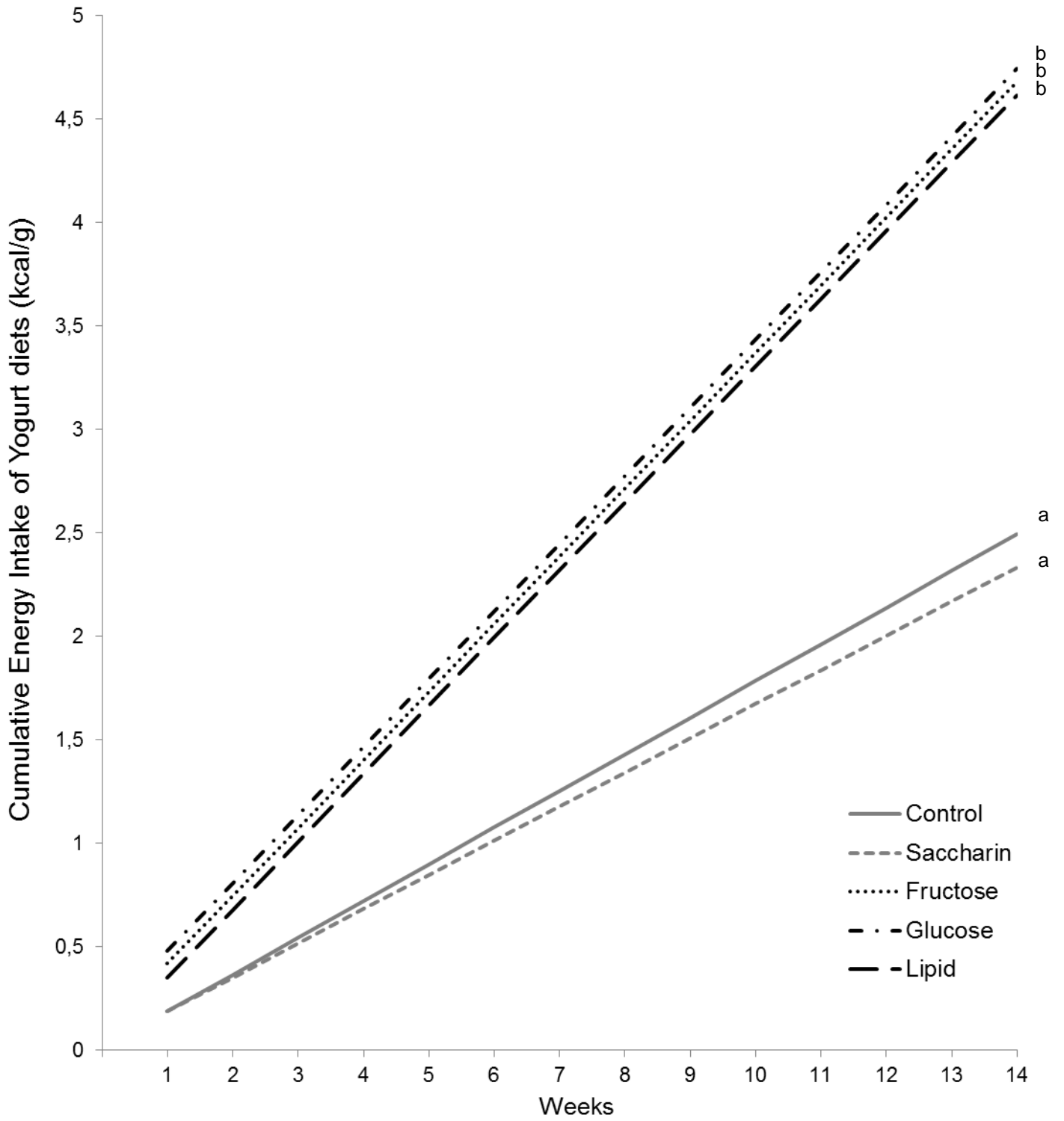


Fig. 2A: Cumulative caloric intake of yogurt diets corrected by the weight weekly (kcal/g) over the 14 weeks, determined by linear mixed model. “a” vs. “b”, $p < .001$ ($n = 8$ per group).

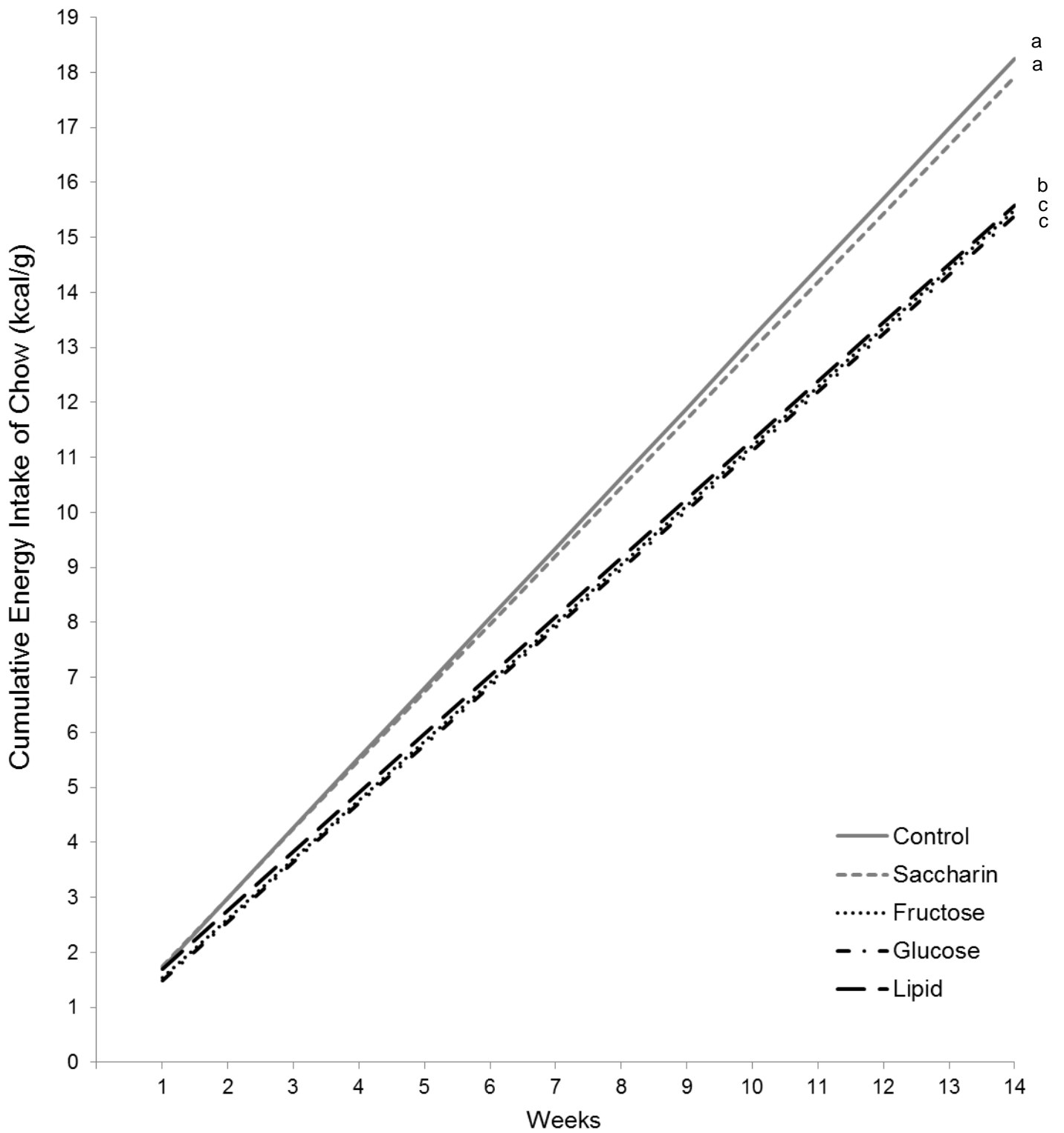


Fig. 2B: Cumulative energy intake of chow corrected by the weight weekly (kcal/g) over the 14 weeks, determined by linear mixed model. "b" vs. "c" and vs. "a", $p < .05$; "a" vs. "c" $p < .001$ ($n = 8$ per group).

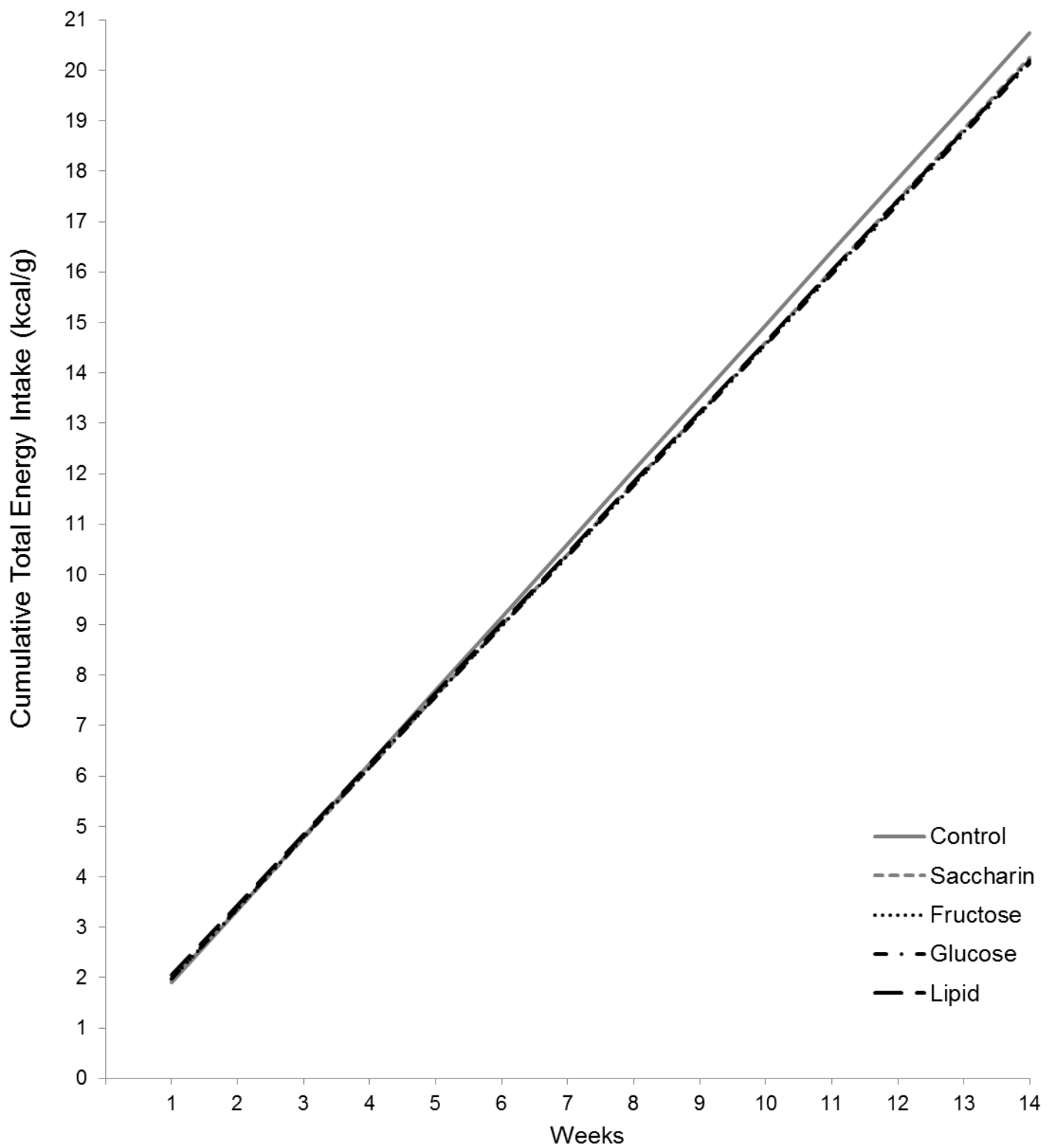


Fig. 2C: Cumulative total energy intake (chow plus yogurt diet) corrected by the weight weekly (kcal/g) over the 14 weeks, determined by linear mixed model. There was no significance difference between the groups (n = 8 per group).

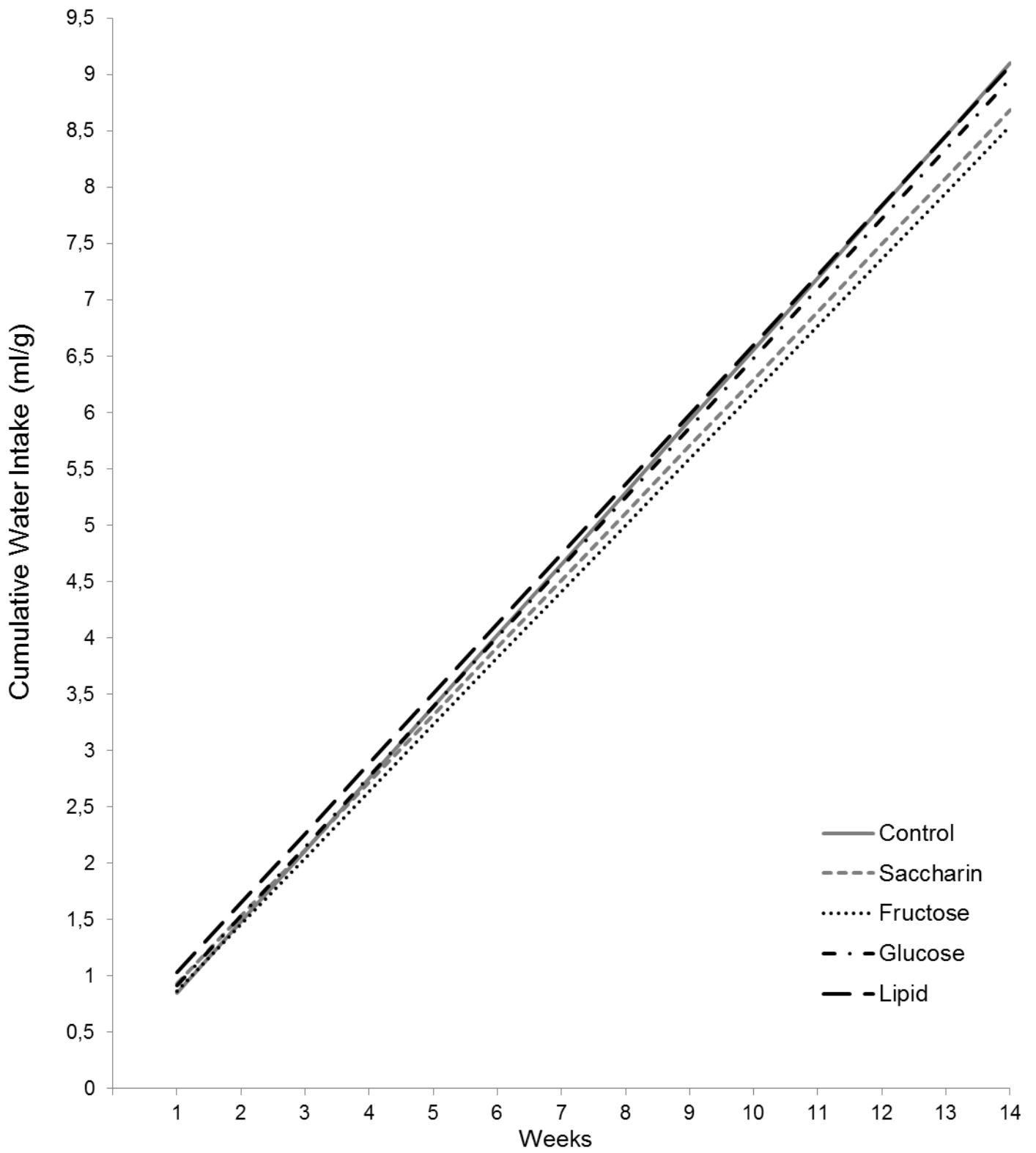


Fig. 3: Cumulative water intake corrected by the weight weekly (ml/g) over the 14 weeks, determined by linear mixed model. There was no significance difference between the groups (n = 8 per group).

REFERENCES

- [1] Association AD. Position of the American Dietetic Association: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *J Am Diet Assoc* 2004;104:255-75.
- [2] Popkin BM, Nielsen SJ. The sweetening of the world's diet. *Obes Res* 2003;11:1325-32.
- [3] Fowler SP, Williams K, Resendez RG, Hunt KJ, Hazuda HP, Stern MP. Fueling the obesity epidemic? Artificially sweetened beverage use and long-term weight gain. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16:1894-900.
- [4] Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, London SJ, Segal MR, Speizer FE. Patterns of weight change and their relation to diet in a cohort of healthy women. *Am J Clin Nutr* 1990;51:1100-5.
- [5] Lutsey PL, Steffen LM, Stevens J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation* 2008;117:754-61.
- [6] Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF, Wang TJ, Fox CS, Meigs JB, D'Agostino RB, Gaziano JM, Vasan RS. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation* 2007;116:480-8.
- [7] Polyák E, Gombos K, Hajnal B, Bonyár-Müller K, Szabó S, Gubicsekó-Kisbenedek A, Marton K, Ember I. Effects of artificial sweeteners on body weight, food and drink intake. *Acta Physiol Hung* 2010;97:401-7.
- [8] Davidson TL, Martin AA, Clark K, Swithers SE. Intake of high-intensity sweeteners alters the ability of sweet taste to signal caloric consequences: Implications for the learned control of energy and body weight regulation. *Q J Exp Psychol (Colchester)* 2011;64:1430-41.
- [9] Rogers PJ, Carlyle JA, Hill AJ, Blundell JE. Uncoupling sweet taste and calories: comparison of the effects of glucose and three intense sweeteners on hunger and food intake. *Physiol Behav* 1988;43:547-52.
- [10] Swithers SE, Davidson TL. A role for sweet taste: calorie predictive relations in energy regulation by rats. *Behav Neurosci* 2008;122:161-73.
- [11] Marmonier C, Chapelot D, Louis-Sylvestre J. Effects of macronutrient content and energy density of snacks consumed in a satiety state on the onset of the next meal. *Appetite* 2000;34:161-8.
- [12] Blundell JE, Burley VJ, Cotton JR, Lawton CL. Dietary fat and the control of energy intake: evaluating the effects of fat on meal size and postmeal satiety. *Am J Clin Nutr* 1993;57:772S-7S; discussion 7S-8S.
- [13] Astrup A, Grunwald GK, Melanson EL, Saris WH, Hill JO. The role of low-fat diets in body weight control: a meta-analysis of ad libitum dietary intervention studies. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24:1545-52.
- [14] Council NR. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington, DC: National Academies Press, 2010.
- [15] Martinez D, Vasconcellos LF, de Oliveira PG, Konrad SP. Weight loss and brown adipose tissue reduction in rat model of sleep apnea. *Lipids Health Dis* 2008;7:26.

- [16] West BT. Analyzing longitudinal data with the linear mixed models procedure in SPSS. *Eval Health Prof* 2009;32:207-28.
- [17] Cleophas TJ, Zwinderman AH, van Ouwerkerk B. *Clinical Research: A Novel Approach to the Analysis of Repeated Measures*. Am J Ther 2010.
- [18] Shek DT, Ma CM. Longitudinal data analyses using linear mixed models in SPSS: concepts, procedures and illustrations. *ScientificWorldJournal* 2011;11:42-76.
- [19] Adolph EF. Urges to eat and drink in rats. *Am J Physiol* 1947;151:110-25.
- [20] Ludwig DS. Artificially sweetened beverages: cause for concern. *JAMA* 2009;302:2477-8.
- [21] Canty DJ, Chan MM. Effects of consumption of caloric vs noncaloric sweet drinks on indices of hunger and food consumption in normal adults. *Am J Clin Nutr* 1991;53:1159-64.
- [22] Rolls BJ, Kim S, Fedoroff IC. Effects of drinks sweetened with sucrose or aspartame on hunger, thirst and food intake in men. *Physiol Behav* 1990;48:19-26.
- [23] Vozzo R, Wittert G, Cocchiario C, Tan WC, Mudge J, Fraser R, Chapman I. Similar effects of foods high in protein, carbohydrate and fat on subsequent spontaneous food intake in healthy individuals. *Appetite* 2003;40:101-7.
- [24] de Graaf C, Hulshof T, Weststrate JA, Jas P. Short-term effects of different amounts of protein, fats, and carbohydrates on satiety. *Am J Clin Nutr* 1992;55:33-8.
- [25] Blundell JE, MacDiarmid JI. Fat as a risk factor for overconsumption: satiety, satiety, and patterns of eating. *J Am Diet Assoc* 1997;97:S63-9.
- [26] Warwick ZS, Synowski SJ, Bell KR. Dietary fat content affects energy intake and weight gain independent of diet caloric density in rats. *Physiol Behav* 2002;77:85-90.
- [27] Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev* 2005;63:133-57.
- [28] Elliott SS, Keim NL, Stern JS, Teff K, Havel PJ. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am J Clin Nutr* 2002;76:911-22.
- [29] Teff KL, Elliott SS, Tschöp M, Kieffer TJ, Rader D, Heiman M, Townsend RR, Keim NL, D'Alessio D, Havel PJ. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2963-72.
- [30] Lindqvist A, Baelemans A, Erlanson-Albertsson C. Effects of sucrose, glucose and fructose on peripheral and central appetite signals. *Regul Pept* 2008;150:26-32.
- [31] Cui XL, Schlesier AM, Fisher EL, Cerqueira C, Ferraris RP. Fructose-induced increases in neonatal rat intestinal fructose transport involve the PI3-kinase/Akt signaling pathway. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005;288:G1310-20.
- [32] Ferraris RP, Hsiao J, Hernandez R, Hirayama B. Site density of mouse intestinal glucose transporters declines with age. *Am J Physiol* 1993;264:G285-93.
- [33] Truswell AS, Seach JM, Thorburn AW. Incomplete absorption of pure fructose in healthy subjects and the facilitating effect of glucose. *Am J Clin Nutr* 1988;48:1424-30.
- [34] Kneepkens CM, Vonk RJ, Fernandes J. Incomplete intestinal absorption of fructose. *Arch Dis Child* 1984;59:735-8.

- [35] Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, Nozoe S, Hosoda H, Kangawa K, Matsukura S. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:240-4.
- [36] de Graaf C, Blom WA, Smeets PA, Stafleu A, Hendriks HF. Biomarkers of satiation and satiety. *Am J Clin Nutr* 2004;79:946-61.
- [37] Raben A, Holst JJ, Christensen NJ, Astrup A. Determinants of postprandial appetite sensations: macronutrient intake and glucose metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20:161-9.
- [38] 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* 1998;275:G797-804.
- [39] Pawlak DB, Kushner JA, Ludwig DS. Effects of dietary glycaemic index on adiposity, glucose homeostasis, and plasma lipids in animals. *Lancet* 2004;364:778-85.
- [40] Ludwig DS. The glycemic index: physiological mechanisms relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease. *JAMA* 2002;287:2414-23.
- [41] Ludwig DS, Majzoub JA, Al-Zahrani A, Dallal GE, Blanco I, Roberts SB. High glycemic index foods, overeating, and obesity. *Pediatrics* 1999;103:E26.
- [42] Rogers PJ, Blundell JE. Separating the actions of sweetness and calories: effects of saccharin and carbohydrates on hunger and food intake in human subjects. *Physiol Behav* 1989;45:1093-9.
- [43] Swithers SE, Baker CR, Davidson TL. General and persistent effects of high-intensity sweeteners on body weight gain and caloric compensation in rats. *Behav Neurosci* 2009;123:772-80.
- [44] Mattes RD, Popkin BM. Nonnutritive sweetener consumption in humans: effects on appetite and food intake and their putative mechanisms. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1-14.
- [45] Jang HJ, Kokrashvili Z, Theodorakis MJ, Carlson OD, Kim BJ, Zhou J, Kim HH, Xu X, Chan SL, Juhaszova M, Bernier M, Mosinger B, Margolskee RF, Egan JM. Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:15069-74.
- [46] Malaisse WJ, Vanonderbergen A, Louchami K, Jijakli H, Malaisse-Lagae F. Effects of artificial sweeteners on insulin release and cationic fluxes in rat pancreatic islets. *Cell Signal* 1998;10:727-33.
- [47] Just T, Pau HW, Engel U, Hummel T. Cephalic phase insulin release in healthy humans after taste stimulation? *Appetite* 2008;51:622-7.
- [48] Ionescu E, Rohner-Jeanrenaud F, Proietto J, Rivest RW, Jeanrenaud B. Taste-induced changes in plasma insulin and glucose turnover in lean and genetically obese rats. *Diabetes* 1988;37:773-9.
- [49] Berthoud HR, Trimble ER, Siegel EG, Bereiter DA, Jeanrenaud B. Cephalic-phase insulin secretion in normal and pancreatic islet-transplanted rats. *Am J Physiol* 1980;238:E336-40.
- [50] Li X, Staszewski L, Xu H, Durick K, Zoller M, Adler E. Human receptors for sweet and umami taste. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:4692-6.
- [51] Nakagawa Y, Nagasawa M, Yamada S, Hara A, Mogami H, Nikolaev VO, Lohse MJ, Shigemura N, Ninomiya Y, Kojima I. Sweet taste receptor expressed in pancreatic beta-cells

activates the calcium and cyclic AMP signaling systems and stimulates insulin secretion. *PLoS One* 2009;4:e5106.

[52] Nelson G, Hoon MA, Chandrashekar J, Zhang Y, Ryba NJ, Zuker CS. Mammalian sweet taste receptors. *Cell* 2001;106:381-90.

[53] Pawlak DB, Bryson JM, Denyer GS, Brand-Miller JC. High glycemic index starch promotes hypersecretion of insulin and higher body fat in rats without affecting insulin sensitivity. *J Nutr* 2001;131:99-104.

[54] Smeets PA, Weijzen P, de Graaf C, Viergever MA. Consumption of caloric and non-caloric versions of a soft drink differentially affects brain activation during tasting. *Neuroimage* 2011;54:1367-74.

[55] Steinert RE, Frey F, Töpfer A, Drewe J, Beglinger C. Effects of carbohydrate sugars and artificial sweeteners on appetite and the secretion of gastrointestinal satiety peptides. *Br J Nutr* 2011;105:1320-8.

[56] Brown RJ, de Banate MA, Rother KI. Artificial sweeteners: a systematic review of metabolic effects in youth. *Int J Pediatr Obes* 2010;5:305-12.

[57] Künnecke B, Verry P, Bénardeau A, von Kienlin M. Quantitative body composition analysis in awake mice and rats by magnetic resonance relaxometry. *Obes Res* 2004;12:1604-15.

[58] Gerbaix M, Metz L, Ringot E, Courteix D. Visceral fat mass determination in rodent: validation of dual-energy X-ray absorptiometry and anthropometric techniques in fat and lean rats. *Lipids Health Dis* 2010;9:140.

[59] Bertin E, Ruiz JC, Mourot J, Peiniau P, Portha B. Evaluation of dual-energy X-Ray absorptiometry for body-composition assessment in rats. *J Nutr* 1998;128:1550-4.

6. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Através da análise da ingestão cumulativa corrigida pelo peso semanal, o presente estudo demonstrou claramente que o aporte calórico, independente do tipo de suplemento avaliado (sacarina, glicose, frutose, ou lipídio), exerce papel fundamental na modulação do apetite.

Apesar de ingerirem volumes equivalentes, os animais que receberam suplemento de iogurte com maior conteúdo calórico, como os grupos Lipídio, Glicose e Frutose (isocalóricos entre si), compensaram a alta ingestão de calorias provenientes das dietas de iogurte consumindo proporcionalmente menos ração. Inversamente, o grupo Sacarina compensou o déficit calórico do suplemento de iogurte ingerindo relativamente mais ração, deste modo, apresentando comportamento alimentar semelhante ao Controle, uma vez que ambos receberam iogurte com idêntico conteúdo calórico.

Assim, as respectivas diferenças entre a ingestão dos diferentes suplementos de iogurte e de ração foram proporcionalmente compensadas, de modo que a ingestão calórica total (iogurte mais ração) demonstrou ser similar entre os grupos experimentais. Adicionalmente, tanto a ingestão calórica total como a ingestão hídrica demonstraram ser relativas ao peso corporal, uma vez que as variáveis em questão foram corrigidas pelo peso de cada semana e esta fração não diferiu significativamente entre os grupos.

Entretanto, o uso crônico de sacarina parece contribuir para o desequilíbrio da homeostase do BE, induzindo ao maior ganho de peso, mesmo sem interferir na ingestão calórica. Além disso, o uso de sacarina demonstrou promover ganho de

peso semelhante ao uso de glicose, lipídio ou frutose. Todavia, o grupo Frutose foi o único a não diferir estatisticamente da condição controle, mas apresentou ganho de peso significativamente inferior ao grupo Glicose. Este dado esclarece a diferença de peso encontrada entre os grupos Sacarina e Sacarose no estudo precedente, e demonstra que os sub-componentes da sacarose apresentam efeitos distintos quando administrados isoladamente, visto que, no presente estudo o ganho de peso do grupo Sacarina não diferiu dos grupos Glicose e Frutose.

Apesar dos grupos não apresentarem diferença quanto à estimativa de massa magra e massa gorda, há de se considerar que a metodologia empregada apresenta limitações referentes à técnica, a qual está sujeita ao viés de aferição. Métodos mais fidedignos, como a densitometria por dupla emissão de raios X (DEXA), são descritos na literatura científica como sendo padrão-ouro.

Com base nos resultados apresentados, concluímos que o uso de sacarina como alternativa adjuvante no controle do peso deve ser ponderado, visto que, em ratos, seu uso pode levar ao ganho de peso excessivo, sendo semelhante ao uso de glicose, lipídio ou frutose. Perspectivas futuras que contemplem elucidar os mecanismos endógenos pelo qual a sacarina induz ao maior ganho de peso, apesar de não interferir na regulação do apetite, devem ser consideradas.

ANÁLISE ESTATÍSTICA ESTRATIFICADA

Tabela A: Ganho de Peso Cumulativo (g) ao longo das 14 semanas

comparações	β	t	p	IC 95%
Sacarina vs.				
Controle	-0,15	-2,12	0,035*	[-0,29; -0,01]
Glicose	0,13	1,88	0,061	[-0,01; 0,28]
Frutose	-0,06	-0,88	0,379	[-0,20; 0,08]
Lipídio	0,02	0,31	0,760	[-0,12; 0,16]
Controle vs.				
Sacarina	0,15	2,12	0,035*	[0,01; 0,29]
Glicose	0,29	4,00	< 0,001***	[0,15; 0,43]
Frutose	0,09	1,24	0,218	[-0,05; 0,23]
Lipídio	0,17	2,42	0,016*	[0,03; 0,31]
Glicose vs.				
Sacarina	-0,13	-1,88	0,061	[-0,28; 0,01]
Controle	-0,29	-4,00	< 0,001***	[-0,43; -0,15]
Frutose	-0,20	-2,76	0,006*	[-0,34; -0,06]
Lipídio	-0,11	-1,57	0,117	[-0,25; 0,03]
Frutose vs.				
Sacarina	0,06	0,88	0,379	[-0,08; 0,20]
Controle	-0,09	-1,24	0,218	[-0,23; 0,05]
Glicose	0,20	2,76	0,006*	[0,06; 0,34]
Lipídio	0,09	1,19	0,236	[-0,06; 0,23]
Lipídio vs.				
Sacarina	-0,02	-0,31	0,760	[-0,16; 0,12]
Controle	-0,17	-2,42	0,016*	[-0,31; -0,03]
Glicose	0,11	1,57	0,117	[-0,03; 0,25]
Frutose	-0,09	-1,19	0,236	[-0,23; 0,06]

Análise estatística por Modelo Linear Misto (LMM), utilizando estrutura da covariância do tipo diagonal (efeito quadrático).

gl = 241,44; EP = 0,07; n = 8/grupo; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$

$F(4, 241,44) = 4,38, p = 0,002$

Tabela B: Ingestão Calórica Cumulativa de iogurte (kcal/g)[#] ao longo das 14 semanas

comparações	β	t	p	IC 95%
Sacarina vs.				
Controle	-0,01	-0,77	0,445	[-0,04; 0,02]
Glicose	-0,16	-10,30	< 0,001***	[-0,20; -0,13]
Frutose	-0,16	-10,30	< 0,001***	[-0,19; -0,13]
Lipídio	-0,14	-8,79	< 0,001***	[-0,17; -0,11]
Controle vs.				
Sacarina	0,01	0,77	0,445	[-0,02; 0,04]
Glicose	-0,15	-9,53	< 0,001***	[-0,18; -0,12]
Frutose	-0,15	-9,52	< 0,001***	[-0,18; -0,12]
Lipídio	-0,13	-8,02	< 0,001***	[-0,16; -0,09]
Glicose vs.				
Sacarina	0,16	10,30	< 0,001***	[0,13; 0,20]
Controle	0,15	9,53	< 0,001***	[0,12; 0,18]
Frutose	0,00	0,01	0,994	[-0,03; 0,03]
Lipídio	0,02	1,52	0,138	[-0,01; 0,06]
Frutose vs.				
Sacarina	0,16	10,30	< 0,001***	[0,13; 0,19]
Controle	0,15	9,52	< 0,001***	[0,12; 0,18]
Glicose	0,00	-0,01	0,994	[-0,03; 0,03]
Lipídio	0,02	1,51	0,140	[-0,01; 0,06]
Lipídio vs.				
Sacarina	0,14	8,79	< 0,001***	[0,11; 0,17]
Controle	0,13	8,02	< 0,001***	[0,09; 0,16]
Glicose	-0,02	-1,52	0,138	[-0,06; 0,01]
Frutose	-0,02	-1,51	0,140	[-0,06; 0,01]

Análise estatística por Modelo Linear Misto (LMM), utilizando estrutura da covariância do tipo auto-regressiva de primeira ordem [AR(1)] (efeito linear).

gl = 36,02; EP = 0,02; n = 8/grupo; *** $p < 0,001$

$F(4, 36,02) = 54,04, p < 0,001$

[#]: ingestão corrigida pelo peso semanal

Tabela C: Ingestão Calórica Cumulativa de Ração (kcal/g)[#] ao longo das 14 semanas

comparações	β	t	p	IC 95%
Sacarina vs.				
Controle	-0,03	-0,78	0,442	[-0,10; 0,05]
Glicose	0,17	4,69	< 0,001***	[0,10; 0,25]
Frutose	0,17	4,58	< 0,001***	[0,10; 0,25]
Lipídio	0,09	2,42	0,020*	[0,01; 0,17]
Controle vs.				
Sacarina	0,03	0,78	0,442	[-0,05; 0,10]
Glicose	0,20	5,47	< 0,001***	[0,13; 0,28]
Frutose	0,20	5,35	< 0,001***	[0,12; 0,27]
Lipídio	0,12	3,20	0,003**	[0,04; 0,19]
Glicose vs.				
Sacarina	-0,17	-4,69	< 0,001***	[-0,25; -0,10]
Controle	-0,20	-5,47	< 0,001***	[-0,28; -0,13]
Frutose	0,00	-0,12	0,908	[-0,08; 0,07]
Lipídio	-0,08	-2,27	0,028*	[-0,16; -0,01]
Frutose vs.				
Sacarina	-0,17	-4,58	< 0,001***	[-0,25; -0,10]
Controle	-0,20	-5,35	< 0,001***	[-0,27; -0,12]
Glicose	0,00	0,12	0,908	[-0,07; 0,08]
Lipídio	-0,08	-2,16	0,037*	[-0,16; -0,01]
Lipídio vs.				
Sacarina	-0,09	-2,42	0,020*	[-0,17; -0,01]
Controle	-0,12	-3,20	0,003**	[-0,19; -0,04]
Glicose	0,08	2,27	0,028*	[0,01; 0,16]
Frutose	0,08	2,16	0,037*	[0,01; 0,16]

Análise estatística por Modelo Linear Misto (LMM), utilizando estrutura da covariância do tipo auto-regressiva de primeira ordem [AR(1)] (efeito linear).

gl = 39,90; EP = 0,04; n = 8/grupo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$

$F(4, 39,90) = 12,80, p < 0,001$

[#]: ingestão corrigida pelo peso semanal

Tabela D: Ingestão Calórica Cumulativa Total (kcal/g)[#] ao longo das 14 semanas

comparações	β	t	p	IC 95%
Sacarina vs.				
Controle	-0,04	-1,02	0,316	[-0,12; 0,04]
Glicose	0,01	0,29	0,771	[-0,07; 0,09]
Frutose	0,01	0,18	0,856	[-0,07; 0,09]
Lipídio	-0,05	-1,21	0,235	[-0,13; 0,03]
Controle vs.				
Sacarina	0,04	1,02	0,316	[-0,04; 0,12]
Glicose	0,05	1,31	0,198	[-0,03; 0,13]
Frutose	0,05	1,20	0,238	[-0,03; 0,13]
Lipídio	-0,01	-0,19	0,851	[-0,09; 0,07]
Glicose vs.				
Sacarina	-0,01	-0,29	0,771	[-0,09; 0,07]
Controle	-0,05	-1,31	0,198	[-0,13; 0,03]
Frutose	0,00	-0,11	0,913	[-0,09; 0,08]
Lipídio	-0,06	-1,50	0,142	[-0,14; 0,02]
Frutose vs.				
Sacarina	-0,01	-0,18	0,856	[-0,09; 0,07]
Controle	-0,05	-1,20	0,238	[-0,13; 0,03]
Glicose	0,00	0,11	0,913	[-0,08; 0,09]
Lipídio	-0,06	-1,39	0,173	[-0,14; 0,03]
Lipídio vs.				
Sacarina	0,05	1,21	0,235	[-0,03; 0,13]
Controle	0,01	0,19	0,851	[-0,07; 0,09]
Glicose	0,06	1,50	0,142	[-0,02; 0,14]
Frutose	0,06	1,39	0,173	[-0,03; 0,14]

Análise estatística por Modelo Linear Misto (LMM), utilizando estrutura da covariância do tipo auto-regressiva de primeira ordem [AR(1)] (efeito linear).

gl = 38,81; EP = 0,04; n = 8/grupo

$F(4, 38,81) = 1, p = 0,42$

[#]: ingestão corrigida pelo peso semanal

Tabela E: Ingestão Hídrica Cumulativa (ml/g)[#] ao longo das 14 semanas

comparações	β	t	p	IC 95%
Sacarina vs.				
Controle	-0,04	-0,61	0,545	[-0,17; 0,09]
Glicose	-0,02	-0,37	0,717	[-0,15; 0,10]
Frutose	0,01	0,08	0,934	[-0,12; 0,13]
Lipídio	-0,05	-0,76	0,449	[-0,18; 0,08]
Controle vs.				
Sacarina	0,04	0,61	0,545	[-0,09; 0,17]
Glicose	0,02	0,25	0,807	[-0,11; 0,14]
Frutose	0,04	0,69	0,492	[-0,08; 0,17]
Lipídio	-0,01	-0,15	0,878	[-0,14; 0,12]
Glicose vs.				
Sacarina	-0,01	-0,08	0,934	[-0,13; 0,12]
Controle	-0,04	-0,69	0,492	[-0,17; 0,08]
Frutose	-0,03	-0,45	0,656	[-0,16; 0,10]
Lipídio	-0,05	-0,85	0,402	[-0,18; 0,07]
Frutose vs.				
Sacarina	0,02	0,37	0,717	[-0,10; 0,15]
Controle	-0,02	-0,25	0,807	[-0,14; 0,11]
Glicose	-0,03	-0,40	0,692	[-0,15; 0,10]
Lipídio	0,03	0,45	0,656	[-0,10; 0,16]
Lipídio vs.				
Sacarina	0,05	0,76	0,449	[-0,08; 0,18]
Controle	0,01	0,15	0,878	[-0,12; 0,14]
Glicose	0,03	0,40	0,692	[-0,10; 0,15]
Frutose	0,05	0,85	0,402	[-0,07; 0,18]

Análise estatística por Modelo Linear Misto (LMM), utilizando estrutura da covariância do tipo auto-regressiva de primeira ordem [AR(1)] (efeito linear).

gl = 37,01; EP = 0,06; n = 8/grupo

$F(4, 37,01) = 0,27, p = 0,89$

[#]: ingestão corrigida pelo peso semanal