

**FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE POSTGRADO**



**“ANÁLISIS COMPARATIVO DE APETITO-SACIEDAD,  
RESPUESTA GLICÉMICA Y HORMONAL INCRETINICA  
TRAS LA INGESTA DE EDULCORANTES NO NUTRITIVOS  
EN SUJETOS DIABÉTICOS TIPO 2 (DM2)”**

**VERÓNICA MARCELA SAMBRA VÁSQUEZ**

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGISTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
MENCION NUTRICIÓN**

**Director de Tesis: Prof. Dra. Pamela Rojas Moncada  
Prof. Dr. Manuel Ruz Ortiz**

**2016**

**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE POSTGRADO**

**INFORME DE APROBACION TESIS DE MAGISTER**

**Se informa a la Comisión de Grados Académicos de la Facultad de Medicina, que la Tesis de Magister presentada por el candidato**

**VERÓNICA MARCELA SAMBRA VÁSQUEZ**

ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito para optar al Grado de **Magister en Ciencias Biológicas** con **mención en Nutrición** en Examen de Defensa de Tesis rendido el día 6 de Diciembre de 2016.

**Prof. Dra. Pamela Rojas M.**

Director de Tesis

Facultad de Medicina, Universidad de Chile

**Prof. Dr. Manuel Ruz O.**

Director de Tesis

Facultad de Medicina, Universidad de Chile

**COMISION INFORMANTE DE TESIS**

**PROF. DR. MARTIN GOTTELAND.**

**PROF. DRA. DANIELA ADJEMIAN.**

**PROF. NTA. SOLEDAD REYES**

**PROF. DR. FRANCISCO PEREZ.**

Presidente Comisión de Examen

## **DEDICATORIA**

Le dedico este trabajo a mi familia, a mis padres Victoria Vásquez y Alfonso Samba, por su apoyo y amor incondicional durante este proceso, por siempre confiar en mí, por enseñarme a ser mejor persona cada día, porque gracias a su esfuerzo pude seguir estudiando, y sentir que podía llegar lejos con dedicación.

En especial agradecer a mi mamá, eres la persona más importante en mi vida y cada logro académico te lo debo a ti.

A mis amigos y a mi Profesora Claudia Vega que, de alguna manera colocaron su granito de arena en este proyecto y que siempre están en mi corazón por su bondad y ayuda. Agradezco su ayuda desinteresada durante el desarrollo de este estudio, que me permitió progresar de forma profesional y personal.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a la Dra Pamela Rojas y al Dr Manuel Ruz por aceptar esta tesis bajo su dirección, por su apoyo incondicional y por disponer de su tiempo cada vez que lo solicite. Destacó su calidad como docentes y como personas, agradezco cada uno de sus consejos y/o correcciones entregadas durante el recorrido que conformó esta etapa de mi vida académica.

Agradezco de forma especial al Dr. Martín Gotteland por su apoyo y enseñanzas académicas brindadas durante el proceso del estudio. Al igual que a cada uno de los miembros de la comisión de mi tesis a la Dra. Daniela Adjemian, al Dr. Francisco Pérez y a la Nta. Soledad Reyes por su voluntad al guiar y corregir ideas, y por compartir aquellos conocimientos que permitieron mejorar este estudio.

Destacar y agradecer a la “Sra Juani” Codoceo por su invaluable ayuda en cada una de las mediciones y ejecución de este estudio, por su buena disposición, por sus palabras de apoyo a diario, por ser una excelente profesional y persona siempre. Agradezco también a Álvaro y Francisco por su ayuda en la realización de las pruebas de laboratorio.

Agradezco a las nutricionistas Daniela Carvajal y a Gabriela Leal por su importante ayuda y activa participación en el reclutamiento de pacientes, ya que sin su ayuda no hubiese concluido con éxito.

Agradezco a todos aquellos que a través de su ayuda me permitieron llevar a cabo esta experiencia única, en especial a Claudia Vega, ya que sin su apoyo no hubiese tomado la decisión de hacer este magíster y alcanzado los objetivos profesionales y personales que me permitieron llegar a esta instancia.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	6
ABSTRACT .....	8
1. INTRODUCCIÓN.....	10
1.1 Respuesta Glicémica e Insulínica.....	11
1.2 Sucralosa .....	12
1.3 Estevia.....	13
1.4 Receptores de sabor dulce.....	15
1.5 Respuesta Hormonal de Incretinas.....	17
1.6 Apetito-Saciedad .....	19
2. HIPÓTESIS .....	21
3. OBJETIVO GENERAL .....	22
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	22
5. METODOLOGÍA.....	23
5.1 Diseño del estudio.....	23
5.2 Sujetos experimentales.....	23
5.3 Tamaño de la muestra .....	24
5.4 Lugar de selección de los pacientes .....	25
5.5 Protocolo .....	25
5.6 Determinación de edulcorantes no nutritivos.....	27
5.7 Determinaciones de Apetito y Saciedad .....	30
5.8 Ensayos Biológicos .....	31
5.9 Determinaciones antropométricas:.....	33
5.10 Análisis Estadístico .....	34
6. RESULTADOS .....	35
6.1 Análisis descriptivo de la muestra.....	35
6.2 Evaluación de la glicemia e insulina frente a los tratamientos .....	37
6.3 Evaluación de los niveles de GLP-1 frente a los tratamientos.....	40
6.4 Evaluación objetiva del apetito .....	42
6.5 Evaluación subjetiva del apetito.....	43
7. DISCUSIÓN.....	57
7.1 Percepción del sabor de la pre-carga.....	58
7.2 Respuesta glicémica e insulinémica.....	59
7.3 Respuesta de la incretina GLP-1 .....	63
7.4 Ingesta de alimentos entregados a voluntad.....	65
7.5 Percepción subjetiva del apetito.....	66
8. CONCLUSIÓN .....	69
9. BIBLIOGRAFÍA .....	70
10.ANEXOS .....	75

## RESUMEN

**Introducción:** Actualmente no existen datos concluyentes sobre el efecto de los edulcorantes no nutritivos (ENN) sobre factores cruciales como la ingesta energética, el apetito y su relación con el sabor dulce en sujetos con diabetes. Resulta de gran interés comparar los efectos de la ingesta de ENN como estevia (glicósidos de esteviol) y sucralosa, previo a una comida mixta sobre el apetito, glicemia, insulinemia y concentraciones plasmáticas de GLP-1 en sujetos con diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

**Objetivo:** Comparar los efectos de la ingesta de edulcorantes no nutritivos estevia (glicósidos de esteviol) y sucralosa previo a una comida mixta sobre el apetito, glicemia, insulinemia, concentraciones plasmáticas de la incretina GLP-1 en sujetos con DM2.

**Metodología:** Se estudiaron 17 sujetos con DM2 en 3 ocasiones distintas sometidos a 3 tratamientos: pre-carga de agua o sucralosa o estevia y luego a consumir una comida mixta de prueba que aportaba 332 kcal y 75 gramos de hidratos de carbono disponibles. A través de muestras sanguíneas se obtuvieron los valores de las variables dependientes glicemias, insulinemias a los tiempos -10, 0, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos y GLP-1, que se midió en los tiempos -10, 0, 30, 90 y 180 minutos. A través de cuestionarios de escala visual análoga (EVA) cada 30 minutos, se obtuvieron los resultados de las variables dependientes: apetito y deseo de tipos específicos de alimentos de manera subjetiva; hambre, saciedad, plenitud, deseo de ingerir algún alimento, deseo de algo dulce, deseo de algo salado, deseo de algo sabroso, deseo de algo graso. A través de la entrega de alimentos a voluntad (apetito objetivo), previamente pesados y fraccionados, se obtuvieron los resultados de: ingesta de energía, hidratos de carbono, proteínas y lípidos. Para evaluar distribución normal, se aplicó test de *Shapiro-Wilk*. La significancia estadística entre área bajo de la curva (ABC) y valores de glicemia, ingesta de energía y macronutrientes por tratamiento se determinó con *Anova de muestras repetidas*. Para analizar las diferencias entre las concentraciones plasmáticas y ABC de insulina y GLP-1 por tratamiento se utilizó test de Friedman, seguido por Wilcoxon y ajustado por Bonferroni. Se analizó el grado de asociación entre respuestas glicémicas e ingesta de comida a voluntad por tratamiento con el factor de correlación de Pearson; para respuesta insulinémica, incretina GLP-1, EVA e ingesta de comida a voluntad por tratamiento se utilizó el factor de correlación de Spearman. Se consideró significativo un  $p < 0,05$ .

**Resultados:** El ingerir una pre-carga de agua, sucralosa o estevia previo a una comida mixta de prueba no afectó significativamente los valores de glicemia ni de insulina, ni tampoco el área bajo la curva (ABC) de glicemia e insulinemia. El área bajo la curva incremental (ABCi) de GLP-1 no se diferenció significativamente entre los tratamientos: ABCi pre-carga agua 131 (60-374) pmol.h/L, ABCi pre-carga sucralosa 322 (101-1102) pmol.h/L y ABCi pre-carga estevia 266 (102-397) pmol.h/L. Con la pre-carga de estevia los sujetos consumieron  $564 \pm 219$  kcal de energía, diferenciándose significativamente de la pre-carga agua donde los sujetos consumieron  $464 \pm 206$  kcal. Esta energía provenía principalmente de los lípidos (pre-carga de estevia consumieron  $25,7 \pm 9,3$  g contra  $21,4 \pm 9,8$  g de lípidos con la pre-carga agua,  $p < 0,05$ ). La energía consumida con la pre-carga de agua se correlacionó positiva y significativamente con la cantidad que la persona considera que puede comer a los 180 minutos ( $r = 0,516$ ;  $p < 0,05$ ), pero negativamente con el deseo de comer algo dulce ( $-0,576$ ;  $p < 0,05$ ) y algo sabroso a los 180 min, ( $r = -0,582$ ;  $p < 0,05$ ). La energía consumida con la pre-carga de estevia se correlacionó positiva y significativamente con el hambre subjetiva del tiempo 30 a 150 min ( $r = 0,607$  a  $r = 0,533$ ;  $p < 0,05$ ), negativamente con la saciedad subjetiva en el minuto

90 y 120 ( $r = -0,624$  y  $r = 0,604$ ;  $p < 0,05$ ), y positivamente con la cantidad que la persona considera que puede comer del minuto 30 a los 180 minutos ( $r = 0,586$  a  $r = 0,580$ ;  $p < 0,05$ ).

**Conclusión:** En este estudio se observó que no hubo diferencias al comparar los efectos de la ingesta de ENN, estevia versus sucralosa previo a una comida mixta sobre la glicemia, insulinemia, ni GLP-1 en sujetos con DM2. Sin embargo, se pudo observar que con la pre-carga estevia los sujetos tendían a sentir más apetito y compensarlo con la ingesta de alimentos que se entregaron a voluntad, principalmente lípidos. Esto da señales para seguir investigando al respecto, para poder contribuir y profundizar en las recomendaciones nutricionales actuales de ENN dirigidas a pacientes con DM2

## ABSTRACT

**Introduction:** There is no current data about the effects of the non-nutritive sweeteners (NNS) about important factors such as the energy intake, appetite and its relationship in people with diabetes when tasting sweet. It is highly relevant to compare the effects of NNS intake, such as, stevia (steviol glycosides) and sucralose, previous to a mixed food on glycemic response, insulin and plasmatic concentrations of GLP 1 in subjects with type 2 diabetes mellitus (T2DM).

**Objective:** To compare the effects of non-nutritive sweeteners intake: stevia (steviol glycosides) and sucralose previous to mixed food on appetite, glycemia, insulin, incretin plasmatic concentrations GLP-1 in people with T2DM.

**Methods:** Seventeen subjects with T2DM were studied in 3 different moments and they received 3 treatments: pre-load of water or sucralose or stevia and then offered to consume mixed food as a test, which provided 332 Kcal and 75 grams of available carbohydrates. Blood samples were obtained to measure the dependent variables, glycemic and insulin at times -10, 0, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 minutes and GLP-1, at times -10, 0, 30, 90, and 180 minutes. The analogue visual scale questionnaires (VAS) was conducted every 30 minutes in order to obtain the results of the depend variables: appetite and wish of specific type of food in a subjective way; appetite, satiety, relax, wish to eat any food, craving for something sweet, craving for something salty, something tasty, something fatty. Through food provided ad libitum (objective appetite), were obtained the results of: energy, carbohydrates, proteins and lipid intakes. The statistical analysis applied included the Shapiro-Wilk's Normality test, repeated measures ANOVA to assess differences among treatments, Friedman's test followed by Wilcoxon's test corrected by Bonferroni as needed. The degree of association between variables was conducted using the Pearson's or Spearman's correlation coefficient tests, as requested. A probability value  $p < 0.05$  was considered significant.

**Results:** After consuming a pre-load of of water, sucralose or stevia previously to the administration of a mixed food as a test, there were no significant effects on the glycemic or insulin values as absolute values or as expressed as area of the curve (AUC). The GLP-1 incremental area under the curve (iAUC) did not show significant differences among groups: iAUC water pre-load 131 (60-374) pmol.h/L, iAUC sucralose pre-load 322 (101-1102) pmol.h./L and iAUC stevia pre-load 266 (102-397) pmol.h/L. With stevia pre-load the subjects consumed  $564 \pm 219$  kcal energy, having a great and notorious difference with water pre-load where the subjects consumed  $464 \pm 206$  kcal. This energy mainly came from lipids. The energy consumed by water pre-load was positive and significantly correlated with the quantity that the individual considered he/she could eat at 180 minutes ( $r = 0,516$ ;  $p < 0,05$ ), but it was inverse when craving for something sweet or tasty at 180 min. The energy consumed with stevia pre-load was positive and significantly correlated with subjective appetite at the time of 30 to 150 min ( $r = 0,607$  a  $r = 0,533$ ;  $p < 0,05$ ), on contrary, negatively with subjective satiety between 90 and 120 min ( $r = -0,624$  y  $r = 0,604$ ;  $p < 0,05$ ), positively with the amount of food that the subject considered he/she can eat starting from the minute 30 to 180 min ( $r = 0,586$  a  $r = 0,580$ ;  $p < 0,05$ ).

**Conclusion:** In this study no differences were observed when comparing the effects of NNS intake, stevia versus sucralose, previous to a mixed food over glycemic, insulin, and GLP-1 response in subjects with T2DM. However, it was observed that with stevia pre-load the subjects tended to feel a bit hungrier, and increased need to consume food, mainly lipids. These

results stimulate additional research on this topic to contribute to better understanding of current NNS nutritional recommendations prescribed to patients with T2DM.

## 1. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que la prevalencia de diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) en todo el mundo, aumentará de 171 millones (año 2000) a 366 millones (año 2030) (1). En Chile la última Encuesta Nacional de Salud corroboró la prevalencia creciente de DM2, que pasó de un 6,3% el año 2003 a 9,4% el 2009 (2).

La DM2 es un trastorno metabólico cuyo rasgo principal es la hiperglicemia producto principalmente de los defectos en la secreción de la insulina, la acción de la insulina o ambas (3).

Según los estándares de atención médica de la *American Diabetes Association* (ADA) las personas con diabetes deben recibir terapia médico nutricional individualizada para lograr los objetivos del tratamiento (4).

Con respecto a la terapia nutricional la evidencia sugiere que no hay un porcentaje ideal de calorías provenientes de los hidratos de carbono (CHO), proteínas ni grasas para todas las personas con diabetes. Por lo tanto, la distribución de macronutrientes debe basarse en la evaluación individual, patrones de alimentación, preferencias y objetivos metabólicos (4). No obstante, la cantidad de CHO y de insulina disponibles pueden ser los factores más importantes que influyen en la respuesta glicémica después de comer y deben ser considerados al desarrollar el plan de alimentación (4).

El uso de edulcorantes no nutritivos (ENN) tiene el potencial de reducir la ingesta total de calorías e CHO si sustituye la ingesta de edulcorantes calóricos y si no se compensa con la ingesta de calorías de otras fuentes de alimentos (5).

El número de estudios que examinan la seguridad y el uso de ENN en las personas con diabetes son limitados. Sin embargo, estos productos son ampliamente probados y demostrado ser seguros en estudios con animales antes de que se comercialicen. La *Food and Drug Administration* (FDA) determina su seguridad e ingesta diaria admisible (IDA) (6) (7).

Estudios llevados a cabo en niños y adultos con diabetes, encontraron que aquellos que tienen un mayor consumo de ENN, en la mayoría de los casos no supera la IDA (8) (9). No obstante, se necesitan estudios adicionales para monitorear los resultados metabólicos y efectos sobre el apetito en los seres humanos, especialmente en los adultos y niños con diabetes (7).

Puesto que actualmente no existen datos concluyentes del efecto de los edulcorantes sobre factores cruciales como la ingesta energética, el apetito y su relación con el sabor dulce en sujetos con diabetes, resultaría de gran interés realizar una comparación entre la ingesta oral de ENN como la sucralosa y estevia rebaudiana (glucósidos de esteviol) sobre el apetito, ingesta de alimentos, respuesta glicémica, insulinémica e incretínica de GLP-1 en sujetos con DM2.

### **1.1 Respuesta Glicémica e Insulínica**

En ayuno la concentración plasmática de glucosa tiene un rango determinado que se denomina basal. Al consumir un alimento que contiene CHO (simples o complejos) esta concentración plasmática sube hasta un máximo, para luego disminuir en el transcurso del tiempo. Esta respuesta de la concentración plasmática de glucosa (glicemia) a la ingesta de alimentos es lo que se denomina respuesta glicémica (10).

La secreción de insulina se produce en respuesta a la ingesta de CHO, por lo tanto un estado hiperglicémico desencadena un estado hiperinsulinémico (11).

La hipótesis más popular sobre la regulación de la ingesta de alimentos es la “Teoría glucostática” la cual fue propuesta por Mayer quien establece que el inicio de una comida ocurre cuando el cerebro detecta señales de déficit de energía, la señal natural corresponde a una caída rápida de la glicemia (12). Acorde a esta teoría, concentraciones bajas de glucosa contribuirían a iniciar la alimentación, y altos niveles de glucosa constituirían señales de saciación, para realizar el término de una comida. Es conocido que la concentración de glucosa en sangre se eleva con la ingesta de comidas que contienen CHO y disminuye de forma rápida los niveles durante el período postabsortivo (13). La elevada respuesta glicémica seguida de una importante secreción de insulina, provocarían una abrupta caída en la curva glicémica postprandial y un consecuente periodo de hipoglicemia, lo cual contribuiría a sentir hambre en un tiempo breve (12).

Los ENN en teoría no producen efecto glicémico, sin embargo, alimentos que contienen ENN pueden afectar la glicemia en base a otros ingredientes (7). La Asociación Americana del Corazón y la ADA concluyeron que no hay suficiente evidencia para determinar que el uso de ENN conduce a la reducción del peso corporal y de los factores de riesgo cardiometabólicos.

bólicos (5) (14). Estas conclusiones son consistentes con una revisión sistemática de edulcorantes hipocalóricos (incluidos el azúcar, alcoholes) que encontró poca evidencia de que el uso de ENN conduce a reducciones en el peso corporal (5) (15).

Tres estudios en humanos, mostraron que no hubo ningún efecto sobre la respuesta glicémica y los niveles plasmáticos de los lípidos cuando se añadieron ENN a la dieta de adultos con diabetes en comparación con una dieta control (16) (17) (18). Un estudio informó que una dieta que incorporó beta-glucanos derivados de la avena más edulcorantes como la sucralosa y fructosa produjo una mejoría en el metabolismo de sujetos DM2 disminuyendo la glicemia plasmática, la hemoglobina glicosilada (HbA1c) y aumentando el colesterol HDL (19).

## **1.2 Sucralosa**

La sucralosa es un edulcorante no calórico derivado de la sacarosa y es 600 veces más dulce que la sacarosa (20). Su ingesta diaria admisible es 15 mg/kg de peso corporal al día (21). El 85% no se absorbe y se excreta sin cambios por las heces; el resto que se absorbe se excreta sin cambios por la orina (22). El consumo de sucralosa es esperable en las personas con diabetes, que a menudo utilizan ENN para reducir su ingesta de azúcares refinados (23). Por otra parte, el consumo de sucralosa puede ser mayor en esta población, en relación a la población general, sobre la base de que su uso actual puede ser en combinación con otros edulcorantes de alta intensidad (23) (24).

Extensas pruebas en animales de laboratorio y en seres humanos no diabéticos han demostrado que la sucralosa no afecta a la concentración de glucosa ni de insulina en sangre (24). Sin embargo, un estudio reciente demostró que la ingesta de sucralosa, previa a una prueba de tolerancia a la glucosa oral, altera la respuesta metabólica en personas obesas que no son consumidores regulares de ENN. Puesto que el aumento de la glicemia, el péptido-C, las concentraciones de insulina y el área bajo la curva (ABC) de insulina fueron mayores cuando los sujetos consumieron sucralosa, que cuando consumieron agua previa a la prueba. Además, se pudo observar que la sensibilidad a la insulina disminuyó después de la ingesta de sucralosa, lo que sugiere que está causó resistencia a la insulina y que no es fisiológicamente inerte (25). Del mismo modo, en ratas la sucralosa administrada vía sonda no mejoró la homeostasis de la glucosa después de una prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (26). Además,

datos de estudios anteriores llevados a cabo en modelos animales mostraron que la sucralosa aumenta la absorción de glucosa por el aumento del transporte de glucosa intestinal (27) (28). Otros han demostrado que la inclusión crónica de ENN en la dieta regula el alza de la expresión del transportador de glucosa isoforma 1 dependiente de sodio, que a su vez aumenta la velocidad inicial de la captación de glucosa (29) (30) y aumenta las respuestas glicémicas (31).

Sin embargo, los estudios en sujetos con diabetes son limitados; un estudio a corto plazo en individuos diabéticos en que la administración de una cápsula de 1000 mg de sucralosa o placebo de celulosa, seguido de un desayuno estandarizado líquido de 360 kcal no afectó negativamente el control glicémico ni los niveles séricos de péptido-C (17). Otro estudio a largo plazo en que se suplementó con sucralosa (667 mg al día) por 3 meses no alteró la HbA1c y glicemia de ayuno en individuos con DM2. Del mismo modo, no hubo tendencias que podrían sugerir un efecto negativo en el control de la glicemia. Por el contrario, hubo una tendencia a disminuir los niveles de HbA1c durante el curso del estudio (18).

En sujetos sanos se ha observado que la ingesta de sacarosa provoca un aumento de la glicemia y un vaciamiento gástrico más lento al compararla con la sucralosa, la cual no provoca cambios en los niveles de glicemia, al no estimular la liberación de insulina (32).

### **1.3 Estevia**

La palabra “estevia” se refiere a toda la planta de *Stevia rebaudiana* Bertoni (SRB), sólo algunos de los componentes de la hoja de estevia son dulces. Estos componentes dulces se conocen como glucósidos de esteviol y existen varios tipos (los más abundantes son el esteviósido y el rebaudiósido A), estos comparten una red troncal de esteviol común. Residuos de hidratos de carbono (principalmente glucosa) están unidos a la cadena principal de esteviol en varias configuraciones para formar la amplia variedad de compuestos dulces que se encuentran naturalmente en la hoja de estevia. Los glucósidos de esteviol son hasta 300 veces más dulces que la sacarosa, no aportan calorías y pueden ser utilizados como un sustituto a la sacarosa o como una alternativa de ENN (21) (33). Su ingesta diaria admisible es de 4 mg/kg/ de peso corporal (expresados como esteviol) (21).

Se han realizado estudios en humanos para documentar el metabolismo de los glucósidos de esteviol, estos no se absorben en el intestino delgado. Son descompuestos por bacterias en el colon que los hidrolizan a esteviol cortando sus unidades de glucosa. El esteviol se absorbe, viaja a través de la vena porta y se metaboliza principalmente en el hígado para la formación de glucurónido de esteviol y después este se excreta por la orina (34). La investigación ha demostrado que no hay acumulación de estevia (o cualquier subproducto de estevia) en el cuerpo durante el metabolismo (35).

Entre sus posibles efectos beneficiosos sobre la salud humana, incluyen ser anti-hipertensivos y anti-hiperglicémicos (36). Distintos estudios que contaron con un número reducido de sujetos y utilizaron dosis variables de glucósidos de esteviol en comparación con un placebo, observaron que estos no tienen efecto en la glicemia, en los niveles de insulina, la hipertensión y el peso (20).

Los componentes dulces de la hoja de estevia se han asociado con aumentar la sensibilidad a la insulina en modelos de roedores (37) y por tener efectos beneficiosos en la glicemia y en los niveles de insulina en estudios en humanos (38) (39). La ingesta de extractos de SRB durante 3 días redujo significativamente los niveles de glicemia durante la prueba de tolerancia a la glucosa oral y después de un ayuno nocturno en sujetos sanos (38).

Además, se ha visto en ratas con DM2 que la administración de esteviósido tanto por vía intravenosa como por vía oral ejerce acciones anti-hiperglicémicas, insulínótropicas y glucagónostáticas (40) (41). Estudios *in vitro* en islotes aislados de ratón mostraron que la liberación de insulina mediada por esteviósido es dependiente de la glucosa plasmática (42). Puesto que el efecto insulínotrópico del esteviósido en experimentos con animales se desvaneció en presencia de niveles normales a bajos de glicemia. Se requieren concentraciones de glucosa de al menos 119 mg/dL para la liberación de insulina (42) (43).

Un estudio evaluó el efecto de precargas que contienen estevia, aspartamo o sacarosa, en la ingesta de alimentos, saciedad, glicemia e insulinemia postprandial en sujetos normales y obesos. Se observó que los sujetos al consumir aspartamo o estevia no compensaron comiendo más en la siguiente comida (almuerzo o cena) y presentaron niveles similares de saciedad en comparación con los sujetos que consumieron sacarosa. Adicionalmente la estevia redujo los niveles de glucosa plasmática e insulina, lo que sugiere que la estevia podría ayudar en la regulación de la glucosa (44).

Dos estudios a largo plazo que evaluaron el efecto del uso de glicósidos de esteviol (rebaudiósido A) en comparación con un placebo, reportaron que no tiene efectos significativos sobre la glicemia, HbA1c, presión arterial, y el peso corporal en personas con DM2 (45) (46). En cambio, un estudio que comparó la suplementación de un 1 gramo de esteviósido con 1 gramo de almidón de maíz (control) en una comida de prueba estándar respectivamente, reportó que el esteviósido reduce la glicemia postprandial y tiende a potenciar la secreción de insulina en pacientes con DM2 (39). Sin embargo, un estudio posterior informó que la glicemia de ayunas y la HbA1c no se redujo significativamente por la ingesta de 1,5 gramos diarios de esteviósido en comparación con el placebo (47).

#### **1.4 Receptores de sabor dulce**

La absorción intestinal de glucosa a través del intestino delgado comprende dos componentes; uno de ellos es la absorción activa clásica mediada por el transportador de glucosa dependiente de sodio, SGLT1. Y el otro es un componente difusivo, anteriormente atribuido a flujo paracelular. Sin embargo, la evidencia reciente, indica que el componente difusivo está mediado por la inserción transitoria del transportador de glucosa tipo 2 (GLUT-2) en la membrana apical. Esta vía GLUT-2 apical de la absorción intestinal de glucosa proporciona una ruta importante a altas concentraciones de azúcar. La vía está regulada por el rápido tráfico de GLUT-2 a la membrana apical inducida por la glucosa durante la asimilación de una comida, que puede insertarse dentro de minutos en la membrana apical de yeyuno in vivo en respuesta a altas concentraciones de glucosa, a pesar de que antes se pensó que GLUT2 sólo residía en la membrana baso lateral (48).

Los receptores de sabor dulce y gustducina están presentes en la membrana apical de las células epiteliales intestinales y entero-endocrinas, actuando como sensores de las moléculas con sabor dulce como los azúcares y edulcorantes en el lumen intestinal (48).

La activación de dichos receptores estimula la secreción de incretinas por parte de las células enteroendocrinas y aumenta la expresión de SGLT-1 y el reclutamiento de GLUT-2 en la membrana apical de los enterocitos, aumentando la capacidad intestinal de absorción de glucosa y fructosa en el periodo post-prandial. Este proceso, regulado por la insulina que se une a su receptor en el enterocito generando la reinternalización de GLUT-2 e impide la inser-

ción de GLUT-2 en la membrana apical, incluso cuando la glucosa luminal es elevada. La insulina atenúa la absorción transepitelial, lo que limita la magnitud de las excursiones postprandiales de glucosa en plasma. Este mecanismo se vuelve ineficiente en el sujeto diabético, puesto que la acción defectuosa de la insulina, ya sea por disminución de la producción del páncreas o por la resistencia del tejido, conduce a la presencia permanente de GLUT-2 funcional en la membrana apical de los enterocitos, lo que refuerza la falta de control glicémico en la diabetes, puesto que una alta tasa de absorción de azúcar se mantiene a pesar de que la glucosa en sangre esté anormalmente elevada (48).

Un estudio observó que la sucralosa (1 mM) duplica la absorción de 20 mM de glucosa en cuestión de minutos al triplicar selectivamente GLUT2 apical (49). En el intestino, la activación de T1R2 + T1R3 por sucralosa y bajas concentraciones de glucosa, impulsa a GLUT2 a la membrana apical, incrementando la absorción de glucosa dentro de minutos (49).

El receptor de sabor 1 (T1R) de la familia de receptores acoplados a proteína G, se compone de tres miembros: T1R1; T1R2; T1R3. Se ha demostrado que T1R2-T1R3, en asociación con proteína-G gustducina, se expresan en células intestinales endocrinas K y L, donde actúan como sensores del sabor dulce. Algunos estudios han demostrado que la activación de T1R2-T1R3 por azúcares naturales y edulcorantes artificiales conduce a la secreción de péptidos similares al glucagón 1 y 2 (GLP-1 y GLP-2) y a GIP. GLP-1 y GIP aumentan la secreción de insulina; GLP-2 aumenta el crecimiento intestinal y la absorción de la glucosa (50).

Los receptores de sabor dulce (T1R2,3) responden a edulcorantes no calóricos y parte de la respuesta metabólica posterior puede pasar por la "percepción" que tenga una persona a la carga de edulcorante. Existen respuestas distintas a la concentración de estevia, es decir a bajas concentraciones se percibe dulzor y a altas concentraciones se percibe sabor metálico. De 5 edulcorantes probados (tagatosa, sacarosa, sucralosa, eritritol, rebaudiósido A), el rebaudiósido A es el único edulcorante de amargura notable y sensaciones-químicas similares, que se convirtió progresivamente en intensa amargura al aumentar la concentración. En cuanto a la intensidad de dulzor percibido, los edulcorantes de carga (tagatosa, eritritol, sacarosa) tuvieron tasas de crecimiento de dulzura similares (pendientes > 1), mientras que los edulcorantes de alta potencia (sucralosa, rebaudiósido A) arrojaron tasas de dulzor mucho más planas (pendientes <1) (51).

## 1.5 Respuesta Hormonal de Incretinas

Las incretinas son un grupo de hormonas gastrointestinales que causan un aumento en la cantidad de insulina liberada de las células beta ( $\beta$ ) de los islotes de Langerhans después de comer. También inhiben la liberación de glucagón de las células alfa ( $\alpha$ ) de los islotes de Langerhans. Como resultado, reducen la velocidad de absorción de los nutrientes en el torrente sanguíneo mediante la reducción del vaciamiento gástrico y pueden reducir directamente la ingesta de alimentos.

Las dos principales moléculas candidatas que cumplen los criterios para una incretina son el péptido similar al glucagón tipo-1 (GLP-1) y el péptido inhibidor gástrico (o polipéptido insulínico dependiente de la glucosa (GIP)).

El gen de proglucagón humano fue clonado en 1983, y la secuencia de proglucagón humano se dedujo posteriormente. Después de eso, se encontró que la secuencia específica de GLP-1 tiene efecto insulínico: GLP-1 (7-36) amida. Ahora, GLP-1 (7-36) amida y GLP-1 (7-37) son conocidas como formas activas de GLP-1. Estas se inactivan rápidamente a GLP-1 (9-36) amida y GLP-1 (9-37) por la DPP-IV en unos pocos momentos en la sangre.

La homeostasis de la glucosa postprandial es controlada no sólo por la estimulación directa de la liberación de insulina, sino también a través de la secreción hormonal de incretinas; el polipéptido inhibidor gástrico (GIP) y péptido similar al glucagón 1 (GLP-1). En sujetos sanos, la contribución cuantitativa de este efecto incretina a la secreción de insulina postprandial en general ha sido estimada en 50-70%, dependiendo del tamaño de la comida y la composición (52). En contraste, una marcada reducción del efecto incretina es característica de los pacientes con DM2, lo que contribuye a la hiperglicemia postprandial en estos pacientes (53). GLP-1 y GIP pueden ejercer su efecto incretina para mejorar la secreción de insulina, lo que induce la internalización de GLUT-2 lejos de las membranas apical y basolateral (54). Sin embargo, los mecanismos exactos que subyacen a la pérdida de actividad incretina en pacientes con DM2 aún no se comprenden por completo, dos defectos se han descrito: En primer lugar, el efecto insulínico del GIP se reduce notablemente en los pacientes con DM2 en comparación con los sujetos controles sanos (~10-20% de la respuesta normal), mientras que la estimulación de la secreción de insulina por el GLP-1 se conserva en gran parte (~60-70% de la respuesta normal). El segundo defecto en el eje entero-insular reportado en pacientes

con DM2 que se refiere a la secreción de GLP-1. En particular, se han encontrado niveles postprandiales de GLP-1 deficientes alrededor de ~20-30% en algunos, pero no en todos los estudios (55).

Estos péptidos juegan un papel relevante tanto como factor de saciedad como incretina (56) (33). El "efecto incretina" se refiere al hecho de que una carga oral de glucosa provoca una mayor respuesta de insulina, que una carga de glucosa intravenosa incluso cuando ambas estén ajustadas para causar el mismo aumento en los niveles de glicemia (57). Se piensa que los ENN no permiten tal liberación de péptidos y por tanto, teóricamente, ello conllevaría a una menor sensación de saciedad y provocaría un aumento del consumo energético (33).

El GLP-1 generado a partir de modificaciones postraduccionales de proglucagón en respuesta a la presencia de nutrientes en el lumen intestinal. Inhibe la secreción de ácido estimulada por la ingesta de alimentos y el vaciamiento gástrico mediante estimulación vagal (58). Además es un mediador importante para la respuesta de la insulina postprandial (59).

Al consumir ENN los niveles de incretinas se mantienen estables, lo que no sucede al consumir sacarosa (60). Aunque se ha demostrado que la sucralosa estimula la secreción de GLP-1 a partir de células L de humanos *in vitro*, dependiendo de la concentración no se sabe si este efecto se produce *in vivo* (61). Hay una falta de datos sobre los efectos de la sucralosa en el vaciado gástrico o la liberación de GLP-1, ya sea en animales o seres humanos (32). La ingesta oral de dos ENN, sucralosa más acesulfame K, seguido por una prueba de tolerancia a la glucosa oral, producen un *peak* más alto de concentración plasmática de GLP-1, en comparación con la ingesta de agua en sujetos sanos (62). De acuerdo con esto se ha visto que la sucralosa más glucosa tienen un efecto estimulador sobre la secreción de GLP-1 a partir de células L primarias en comparación con sucralosa o glucosa sola (63). Un estudio en sujetos sanos mostró que la ingesta oral de una dosis de sucralosa, que se consume en una dieta normal, no aumenta las concentraciones plasmáticas de GLP-1 ni PYY, ni tampoco afecta los sentimientos subjetivos de apetito o la ingesta de energía en la próxima comida (64). Al igual que un estudio en obesos la sucralosa no afectó la respuesta de GLP-1 con una carga oral de glucosa (25).

Por otro lado, el estudio que evaluó la suplementación de esteviósido de la planta SRB, no logró estimular la secreción de GLP-1 o GIP en pacientes con DM2 (39). Estudios *in vitro*

en islotes aislados de ratón en que se evaluó el efecto hormonal, reveló que las diferencias en los niveles de glucagón y GLP-1 fueron insignificantes (42).

## 1.6 Apetito-Saciedad

Se discute que los ENN no poseen un poder de saciedad (sensación de plenitud que persiste por un tiempo y nos lleva a permanecer sin comer hasta que retorna la sensación de hambre) como la sacarosa, inclusive podrían causar la sensación de hambre estimulando a comer en exceso, además podrían estimular los receptores del gusto, creando adicción al sabor dulce (32).

Al parecer, la disociación de la sensación del sabor dulce y el aporte calórico deficiente producido por los edulcorantes podría condicionar un incremento en el apetito (deseo de ingerir alimento), dando lugar a un mayor consumo energético y ganancia de peso. Esta hipótesis de condicionamiento operativo (Modelo Pavlov) ha podido demostrarse en modelos animales (33) (65).

Un ensayo controlado aleatorio examinó la sucralosa y el balance energético en adultos. El uso de sucralosa, ya sea en una dieta restringida en energía o *ad libitum* afectará el balance energético global sólo si la sucralosa es sustituida por alimentos de alta energía o bebidas (20) (66). Un estudio transversal con una muestra pequeña de sólo mujeres (Frank y sus colaboradores, 2008) indica que la sucralosa no afecta el apetito en adultos (20).

Estudios que han evaluado el efecto de la estevia sobre el apetito indica que los sujetos que consumieron aspartamo y estevia no compensaron comiendo más en la siguiente comida (almuerzo o cena) (44).

Se plantea que los mecanismos por los cuales los edulcorantes pueden modular el apetito serían: estimulación de la fase cefálica, efectos nutritivos y osmóticos, respuesta de péptidos gastrointestinales, palatabilidad, alteración de la microbiota intestinal, compensación excesiva de las calorías no aportadas por los edulcorantes, activación de los sistemas de recompensa, aprendizaje con refuerzo positivo por el sabor dulce (33).

De manera subjetiva se puede lograr cuantificar la sensación de apetito-saciedad a través del uso de una escala visual análoga (EVA). Los estudios apoyan la fiabilidad y la validez de EVA para medir estados subjetivos relacionados con la ingesta de alimentos (67). Se ha

encontrado que la EVA es fiable al utilizarla en investigaciones acerca del apetito, además de encontrar una correlación positiva entre sensación de apetito, evaluado por este método, e ingesta de alimentos (68).

## **2. HIPÓTESIS**

El consumo del edulcorante estevia (glicósidos de esteviol) previo a una comida mixta de prueba en sujetos con DM2, disminuye la sensación de apetito y produce menor aumento en las respuestas glicémica y mayor respuesta insulinémica, en comparación con la ingesta de sucralosa.

### **3. OBJETIVO GENERAL**

Comparar los efectos de la ingesta de edulcorantes no nutritivos estevia (glicósidos de esteviol) y sucralosa previo a una comida mixta sobre el apetito, glicemia, insulinemia, concentraciones plasmáticas de la incretina GLP-1 en sujetos con DM2.

### **4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Evaluar los cambios en las respuestas glicémicas e insulinémicas de sujetos con DM2 frente al consumo de sucralosa o estevia y después del consumo de una comida mixta de prueba.
2. Describir el comportamiento de la incretina GLP-1 tras el consumo inmediato de estevia o sucralosa y sumado a la ingesta de la comida mixta de prueba.
3. Determinar el apetito tras la ingesta del edulcorante no nutritivo ya sea estevia o sucralosa, sumado a la comida mixta de prueba y luego de la ingesta de alimentos a voluntad.

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1 Diseño del estudio

Estudio experimental.

### 5.2 Sujetos experimentales

La muestra estuvo constituida por hombres y mujeres con DM2. Los criterios de inclusión y exclusión son los siguientes:

Criterios de Inclusión	Criterios de Exclusión
1.- Tratamiento con metformina y/o dieta	1- Sujetos que consuman cualquier otro medicamento o suplemento dietético que pueda interferir en el apetito o la saciedad o sus respuestas glicémicas y hormonales postprandiales
2.- Diabetes diagnosticada hace más de 1 año y menos de 10 años	2.- Sujetos con enfermedad; aguda, cardiovascular significativa, psicológica, neurológica, renal, abuso de alcohol o drogas
3.- Hemoglobina glicosilada (HbA1c) menos de 9%	3.- Sujetos que tengan aversión o alergia a alimentos/ edulcorantes utilizados en precargas o comidas de prueba.
4.- 30-55 años de edad	4.- Sujetos con trastornos alimentarios y que hayan tenido una cirugía gastrointestinal de tipo: cirugía bariátrica, gastrectomía, Whipple o resecciones intestinales
5.- Índice de masa corporal (IMC) $\geq 25$ kg/m <sup>2</sup> y $< 39,9$ kg/m <sup>2</sup>	

Los datos se obtuvieron de un cuestionario que se aplicó al inicio del estudio (Anexo 1). Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Todos los sujetos fueron debidamente informados respecto a lo que consistía esta investigación y sólo ingresaron al estudio una vez firmado el formulario de consentimiento informado (Anexo 2).

### 5.3 Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se calculó en base a los datos publicados por Gregersen et al. (39) respecto a el área bajo la curva incremental de la respuesta glicemia ( $ABC_{i,glucosa}$ ) postprandial observada en 12 sujetos con DM2 en tratamiento con dieta o hipoglucemiantes orales sometidos a los efectos del esteviósido administrado por vía oral (en comparación con grupo placebo) en excursiones postprandiales de glucosa en sangre; un gramo de esteviósido o almidón de maíz se administró al tiempo 0, junto con una comida mixta. Se consideró un  $Z\alpha$  de 1,645 (para un  $p < 0,05$ ), un  $Z\beta$  de 1,282 (para una potencia de 90%), la varianza descrita por Gregersen *et al.* para la  $ABC_{i,glucosa}$  postprandial (25 %) y la diferencia clínica en la  $ABC_{i,glucosa}$  postprandial que se espera encontrar tras las intervenciones a evaluar esteviósido, sucralosa y control (5%). Para calcular el tamaño de la muestra se utilizó la Ecuación 1, de contraste de hipótesis (comparación de medias):

#### ECUACIÓN 1: ESTIMACIÓN DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

$$n = \frac{2 * (Z\alpha + Z\beta)^2 * S^2}{d^2}$$

Dónde:

$Z\alpha$ : Nivel de confianza o seguridad con dos colas, para un  $p = 0,05$  el valor es 1,645

$Z\beta$ : Para una potencia de un 90% el valor es 1,282

$S^2$ : La varianza descrita por Gregersen et al., para la reducción de glicemia postprandial fue de 25 (desviación estándar de 5).

$d$ : Diferencia que se espera encontrar en la reducción de la respuesta glicémica postprandial entre pacientes con ingesta de esteviósido y aquellos con ingesta de placebo, considerando que en el estudio de Gregersen et al, el 95% de los valores de reducción de la respuesta glicémica

postprandial están entre 13 y 23. De acuerdo a esto se consideró una diferencia mínima de reducción de respuesta glicémica de 5 entre ambos grupos.

De la ecuación anterior se obtiene que la muestra mínima necesaria para este estudio es de 17 sujetos por cada una de los tratamientos considerados; considerando un *dropout* del 5% se estimó una muestra total de 18 sujetos (cada sujeto fue su propio control).

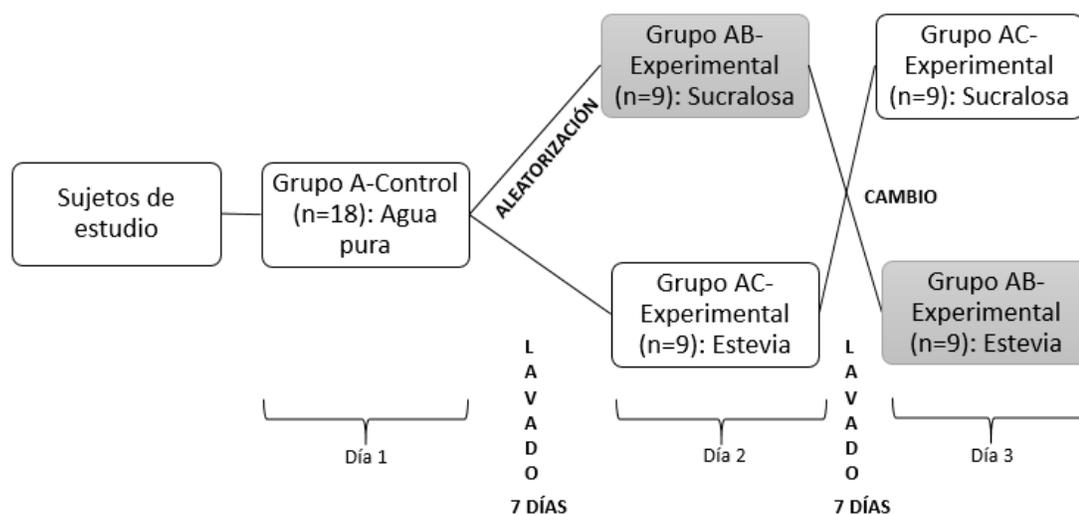
#### 5.4 Lugar de selección de los pacientes

Se reclutaron pacientes por vía electrónica, se le envió un correo a funcionarios y académicos de la Universidad de Chile, invitándolos a participar. Además, se gestionaron procesos de difusión y reclutamiento de pacientes en Centros de Salud tales como el Centro de Salud Familiar Recoleta, CESFAM Dra. Ana María Juricic de Maipú, CESFAM Salvador Allende de Huechuraba.

#### 5.5 Protocolo

El diseño experimental se desarrolló en 3 ocasiones. Cada intervención se realizó separada por un periodo de tiempo mínimo de 7 días (*wash out* o “lavado”) y máximo de 14 días, en función de la disponibilidad de los sujetos experimentales (Figura 1).

Figura 1. Diseño de tratamiento cruzado (*crossover*) cada sujeto sirve como su propio control



La primera intervención correspondía al grupo control, con el objeto de mantener el desconocimiento del tipo de endulzante que estaban recibiendo, entre el día 7 o máximo 14 días post-intervención se invertía el orden de la prueba del ENN. Por lo tanto, durante la segunda o tercera intervención se les daba a beber agua con sucralosa o estevia respectivamente. Para cada intervención se seguía un *check list* (Anexo 3).

Los sujetos debían mantener su dieta normal entre jornadas del estudio y abstenerse del ejercicio vigoroso y de la ingesta de alcohol durante 24 horas antes de cada evaluación. Los sujetos debían asistir con un ayuno de 8 horas, sin haber ingerido metformina ni otro medicamento, a sala de toma de muestras del Departamento de Nutrición (Facultad de Medicina, Universidad de Chile). Sólo se comenzaba el estudio si presentaban una glicemia capilar <140%, medida a través de un glucómetro.

Luego se les solicitaba que contestaran el cuestionario de escala visual análoga (EVA) y se les instalaba un catéter intravenoso en la vena antecubital para tomar las muestras sanguíneas al “tiempo -10”. Inmediatamente después de esto se les daba a beber 60 ml de agua o 60 ml de agua con 48 mg de sucralosa o un volumen equivalente con 96 mg de estevia (glucósidos de esteviol), que debían consumir en menos de 2 minutos, y luego responder a una pregunta respecto a la “sensación” que le produjo el beber esta preparación, para hacer una estimación de su predisposición al sabor del edulcorante: dulce, amargo, metálico u otro sabor (Anexo 4).

Transcurridos 10 minutos, al “tiempo 0” inmediatamente después de la segunda toma de muestra sanguínea, los individuos consumían una comida mixta de prueba que estaba constituida por una taza de té con tres cucharaditas de azúcar, más 126 gramos de un pan de elaboración propia, sin materia grasa, utilizando la máquina para hacer pan, marca *Moulinex OW3101 UNO*; programa 3, pan tradicional, agregando los siguientes ingredientes:

<b>Poolish*</b>	<b>270 g</b>
Agua	135 ml
Levadura Seca	2/3 c.c
T55 Harina	135 g
<b>Masa</b>	<b>500 g</b>
Agua	60 ml
Poolish *	270 g
T55 Harina	185 g
Sal	1 c.c

<b>Ingredientes comida de prueba</b>	<b>Cantidad (g o ml)</b>	<b>Energía (kcal)</b>	<b>Hidratos de car- bono disponibles (g)</b>	<b>Fibra dieté- tica (g)</b>	<b>Proteínas (g)</b>	<b>Lípidos (g)</b>
<b>Té</b>	250 ml	0	0	0	0	0
<b>Azúcar</b>	15 g	60	15	0	0	0
<b>Pan elabo- ración pro- pia</b>	126 g	297	60	1,8	8,7	0,86
	<b>TOTAL</b>	357	75	1,8	8,7	0,9

Las muestras sanguíneas siguientes se tomaron a los tiempos 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos después del “tiempo 0”. En total, se extrajeron 42 ml de sangre, en cada tiempo se determinó la glicemia e insulina (se extrajo 4 ml por vez). Además, sólo en los tiempos -10, 0, 30, 90 y 180 minutos se determinó el valor de GLP-1 (se extrajo en estos tiempos 2 ml extra por vez).

Además, se les aplicaron cuestionarios de EVA cada 30 minutos, a partir del “tiempo -10” hasta los 180 minutos para las determinaciones de apetito.

Al finalizar la extracción de muestras sanguíneas a los 180 minutos y retirar el catéter intravenoso, a los sujetos se les ofreció una comida durante 30 minutos, que consistió en una variedad de alimentos de alta aceptabilidad, previamente pesados y fraccionados.

## **5.6 Determinación de edulcorantes no nutritivos**

Se utilizó 48 mg de concentración de sucralosa, porque tal como lo justifica y aplica el estudio de Ford et al (64), se vio en otros estudios que es la cantidad necesaria para estimular la secreción de GLP-1 en las células intestinales humanas in vitro y coincide con la dulzura de un refresco típico de dieta. Los 96 mg de estevia fueron calculados en función de que ambas soluciones tuviesen el mismo poder edulcorante.

## Estevia

La estevia que se utilizó corresponde a “*stevia pure in powder*” que fue donada por la Empresa Productora Alysa Spa, que obtiene la estevia pura en polvo, a través, de un secado por aspersión; extracto purificado de la planta *Stevia Rebaudiana Bertoni*. La empresa se centra en la eliminación de impurezas a base de hierbas co-extraídas de las hojas puras, para obtener la dulzura de los glicósidos de esteviol. No hacen uso de disolventes orgánicos, los coadyuvantes de elaboración pueden ser etiquetados como naturales. En términos de equilibrio de glucósidos, se centran en mantener el contenido superior al 60% de rebaudiósido A y el contenido de glucósidos totales superiores a 95%.

### Análisis de Laboratorio:

<b>Propiedades</b>	<b>Especificaciones</b>	<b>LOTE N°: 00435</b>
Apariencia	Polvo	Polvo
Humedad	< 6 %	1,4
Rebaudiósido A (% del peso seco)	> 60 %	67,1
Glucósidos de esteviol total (% del peso seco)	> 95 %	98,2
Solventes residuales	< 200 mg/Kg Metanol < 5000 mg/Kg Etanol	N/A*
Fecha de Frabricación	-	2015.12.02
Fecha de caducidad	-	2017.12.02
Aditivos	No Aditivos	No Aditivos

\* No se utilizan disolventes orgánicos durante el procesamiento de Stevia puro. El proceso completo se ejecuta bajo condiciones acuosas.

## Sucralosa

La sucralosa que se utilizó fue donada por la empresa Tate & Lyle Sucralosa SPLENDA® Granulada, es un sólido dulce, polvo blanco a blanquecino, prácticamente inodoro, cristalino y es apto para el consumo humano.

Información Nutricional	Nutrientes por 100 gramos
Calorías	0 kcal
Calorías de grasa	0
Grasa total	0 g
Ácidos grasos saturados	0 g
Ácidos grasos trans	0 g
Colesterol	0 mg
Hidratos de carbono total	0 g
Azúcares	0 g
Fibra dietética	0 g
Proteínas	0 g
Sodio	1,0 mg
Vitamina A	0,000 µg (0 UI)
Vitamina C	0 mg
Calcio	0 mg
Hierro	0 mg
Humedad	2,0 g
Ceniza	0,7 g

Nota: Un valor de 0 significa que este producto no es una fuente significativa de ese nutriente.

## 5.7 Determinaciones de Apetito y Saciedad

### Evaluación Subjetiva de Saciedad (EVA)

Se utilizó la escala visual análoga (EVA) de 10 cm de longitud con palabras ancladas en cada extremo, que expresa la calificación más positiva y la más negativa. Se ocupó para evaluar el hambre, la saciedad, la plenitud, el consumo de alimentos prospectivo, deseo de comer algo dulce, salado, sabroso o graso (68). La persona debía marcar en la escala su sensación; luego se medía la distancia desde el extremo izquierdo al punto marcado por el sujeto, permitiendo cuantificar la sensación (Anexo 5).

### Evaluación Objetiva de Saciedad (Comida a voluntad)

Se entregó una variedad de alimentos de alta aceptabilidad, de baja carga glicémica, previamente pesados y fraccionados que fueron ofrecidos a voluntad. Esta comida aportaba el 35% del gasto energético total (GET) de la persona, del cual el 50% correspondió a hidratos de carbono. Se calculó el gasto energético en reposo (GER) según Carrasco *et al.* (69), que considera el peso real de los sujetos y luego se multiplicó por el nivel de actividad física (usualmente sedentario:1,3-1,4) para obtener el GET.

### Oferta de alimentos ofrecidos a voluntad de ingesta

Alimento	Porción	Energía	Hidratos de carbono	Lípidos	Proteínas
Pan molde integral	1 rebanada	99	10	1,2	2,9
Pan molde blanco “perfecto”	2 rebanadas	90	18	0,45	3,9
Quesillo light	1 rebanada	41	0,8	0,2	4,3
Tomate	1 unidad regular	25	5,6	0,4	1

<b>Palta</b>	3 cucharadas	145	6,7	13,8	1,8
<b>Atún al agua</b>	1/3 taza	79	0	0,1	17,8
<b>Jamón de pavo cocido</b>	1 tajada	24	0	4,46	4,74
<b>Mermelada sin azúcar</b>	1 cucharadita	16	3,8	0	0,1
<b>Yogurt light</b>	1 unidad	66	10,6	0,13	5,6
<b>Jalea light</b>	½ taza	8	0,4	0	2,14
<b>Jugo light</b>	200 ml	4	1	0	0
<b>Manzana</b>	1 unidad chica	59	15,2	0,4	0,2
<b>Pera</b>	1 unidad chica	59	15,1	0,4	0,4
<b>Naranja</b>	1 unidad regular	56	14,2	0,1	1,1
<b>Maní sin sal</b>	30 unidades	176	6,5	14,9	7,1
<b>Almendras</b>	26 unidades	147	5,1	13	5
<b>Nueces</b>	5 unidades	152	3	14,2	6,1

La cuantificación de la ingesta de alimentos consumidos fue a través de la determinación del volumen total y energía que cada sujeto ingirió. Para calcular el volumen se utilizó el procedimiento de pesada diferencial y la energía consumida se determinó mediante el aporte individual de cada alimento obtenido del programa computacional Food Processor 2 (Food Processor II<sup>®</sup>, ESHA Research, Salem, OR, USA), que utiliza una base de datos de composición química de alimentos chilenos y norteamericanos.

### 5.8 Ensayos Biológicos

Las muestras sanguíneas para los ensayos de respuestas glicémica, insulinémica y de GLP-1 se obtuvieron desde el catéter intravenoso, dependiendo del tiempo de toma de mues-

tras se extraían 6 o 4 mililitros de sangre, se colocaban en tubos con tapa roja y/o lila, para luego ser centrifugados (3000 rpm, 1000 g) durante 6 minutos. El sobrenadante suero o plasma era extraído con micropipeta y depositado en alicuotas de 0,5 mL en tubos Eppendorf y congelados a -10°C para su posterior análisis.

### **Determinación de la incretina GLP-1**

El valor de GLP-1 se obtuvo de las muestras sanguíneas del tiempo -10, 0, 30, 90 y 180 minutos para obtener un total de 5 determinaciones de GLP-1. Estas al ser extraídas (2 ml) se depositaban en tubos tapa lila con EDTA, que después de centrifugar permite obtener plasma, estos tubos previamente eran alicuotados con 20 µl del inhibidor DPP IV, puesto que la dilución recomendada es usar 10 µl por mililitro de sangre, produciendo 50 µM de concentración final. El plasma que era alicuotado en tubos eppendorf de 1,5 ml, dejando un tubo eppendorf con 200 µl de plasma para medición de GLP-1, el resto de plasma se almacenaba como contra-muestra.

Las concentraciones de GLP-1 se midieron con el kit de ensayo IBL ELISA, código No. 27784, que es capaz de determinar la forma activa de GLP-1 (GLP-1 (7-36) amida y GLP-1 (7-37)) en plasma EDTA. El coeficiente de variación intraensayo va de un 4,5 a 5,5%, e interensayo de un 7,1% a 10,9%.

### **Determinación de la glicemia e insulinemia.**

Los valores de glicemia e insulinemia se obtuvieron de las muestras sanguíneas de los tiempos -10, 0, 30, 90, 150 y 180 minutos para obtener un total de 8 determinaciones de glicemia e insulinemia respectivamente. La extracción de sangre era de 4 ml por vez y se depositaban en tubos de pro-coagulación. Después de centrifugar se obtenía el suero, que era alicuotado en tubos eppendorf de 1,5 ml, dejando un tubo eppendorf con 200 µl de suero para medición de glucosa y otro con de 200 µl para la medición de insulina. El resto de suero se almacenaba como contra-muestra.

Las concentraciones de la glicemia se determinaron con el método GOD-PAP, ensayo colorimétrico que determina la glucosa después de la oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa (complejo rojo – violeta).

Para el cálculo de la concentración de glucosa se utilizó la siguiente fórmula:

$$C \text{ (mg/dL)} = 100 * (\text{Abs muestra} / \text{Abs estándar})$$

- *Cálculo de la Respuesta glicémica:* se calculó como el área bajo la curva (ABC) del incremento de la glicemia durante 3 horas. La curva de respuesta glicémica se determinó para cada prueba aplicando la regla del trapecioide, excluyendo aquellos valores de glicemia que se encuentren bajo el valor basal (FAO/OMS, 1998) (70).
- Las concentraciones de insulina se determinaron mediante radioinmunoensayo (RIA) a través del instrumento contador GENESYS.
  - *Cálculo de la Respuesta Insulinémica:* El área bajo la curva (ABC) de la respuesta insulinémica se calculó de manera similar al de la glicemia, geoméricamente para cada prueba utilizando la regla del trapecioide excluyendo el área bajo la línea de base.

## 5.9 Determinaciones antropométricas:

Se registró el peso corporal, con una balanza digital SECA<sup>®</sup> modelo 767 (precisión de 0,1 kg) y la talla con un estadiómetro adosado a la balanza (precisión de 0,1 cm). Las mediciones fueron realizadas con los sujetos descalzos, con el peso distribuido uniformemente y con ropa ligera. Con los datos obtenidos se calculó el índice de masa corporal (IMC = peso (kg)/ talla (m<sup>2</sup>)).

## 5.10 Análisis Estadístico

Se determinó la distribución normal de las variables mediante el *test* de *Shapiro-Wilk*. A los parámetros sin distribución normal se les aplicó logaritmo natural. Las variables se expresaron como promedio  $\pm$  desviación estándar o mediana más intervalo intercuartil (Q1-Q3). La significación estadística entre las diferencias en las concentraciones plasmáticas de glucosa, área bajo la curva (ABC) de glicemia, ingesta de energía y macronutrientes por tratamiento (pre- carga agua, sucralosa y estevia), se evaluó a través de *Anova de muestras repetidas*. Para analizar las diferencias entre las concentraciones plasmáticas y ABC de insulina y GLP-1 por tratamiento (pre- carga agua, sucralosa y estevia), se utilizó test de Friedman, seguido por Wilcoxon y ajustado por Bonferroni.

Para identificar diferencias entre la percepción del sabor dulce, amargo, y metálico por tratamiento (pre- carga agua, sucralosa y estevia) se utilizó test de Friedman, seguido por Wilcoxon y ajustado por Bonferroni.

Para identificar las relaciones entre respuestas glicémica, e ingesta de comida a voluntad (ingesta de energía y macronutrientes por tratamiento; pre- carga agua, sucralosa y estevia), se utilizó el factor de correlación de Pearson, en cambio para respuesta insulínica, incretina GLP-1 y la escala visual análoga (EVA) e ingesta de comida a voluntad por tratamiento se utilizó el factor de correlación de Spearman.

El análisis estadístico fue realizado con el programa computacional SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago Illinois). Se consideró como estadísticamente significativo un  $p < 0,05$  para todos los análisis.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Análisis descriptivo de la muestra

Si bien el tamaño muestral calculado era de 18 sujetos, sólo se contó con 17 sujetos en este estudio, por cada una de los tratamientos considerados. Sin embargo, esto no invalida las comparaciones, porque está dentro del 5% de abandono o *dropout* considerado al hacer el cálculo del tamaño muestral.

Las características generales y parámetros de control metabólico de los sujetos DM2 estudiados (6 hombres; 11 mujeres) aparecen detalladas en la Tabla 1.

**Tabla 1**  
*Características generales y parámetros de control metabólico*  
(n=17)

<i>Parámetro</i>	<i>Rango</i>	<i>Promedio ± DE</i>
Edad (años)	32-54	45,5 ± 7,6
Peso (kg)	64,8-109,2	82,9 ± 12,6
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25-34,8	30,9 ± 3,7
CC (cm)	86-111	99,8 ± 8,5
Duración de diabetes (años)	1-10	4,1 ± 2,8
HbA1c (%)	4,8-7,9	6,5 ± 0,8
Dosis de metformina (mg)	850-2550	1570 ± 518
Sexo (Femenino/ Masculino)	11/6	

Datos expresados como promedios ± DE

IMC: Índice de masa corporal; CC: Circunferencia de cintura; HbA1c: Hemoglobina glicosilada.

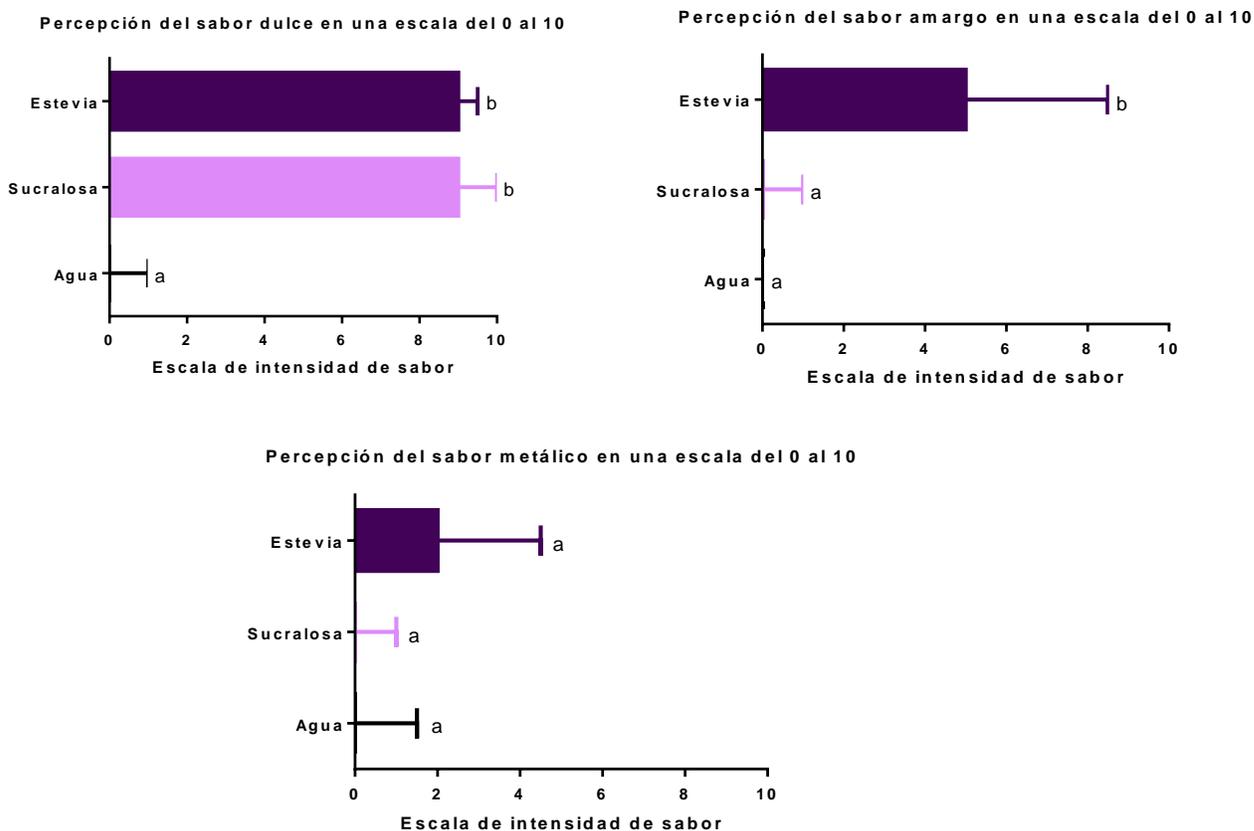
El 41,2% de los sujetos presentaba un IMC considerado como sobrepeso, y el 58,8% como obesidad moderada. De los sujetos estudiados el 70,6% presentaba una HbA1c <7%. Con respecto al tratamiento farmacológico, se dividieron los sujetos en dos grupos; el Grupo 1 que correspondía al 53% (n=9) de los sujetos, consumían una dosis mayor o igual a 1700 mg de metformina y el Grupo 2 correspondiente al 47% (n=8) consumía una dosis inferior a este valor. Al realizar el análisis de diferencias para el área bajo la curva (ABC) con cada pre-carga, el Grupo 1 no presentó diferencias significativas en el ABC de la glicemia, insulina, ni de GLP-1 cuando se comparó con el Grupo 2 por cada pre-carga ingerida (agua, sucralosa o estevia), por lo cual se analizaron como un solo grupo.

Además, se dividieron los sujetos de estudio entre consumidores habituales de edulcorantes no nutritivos (n=14) y aquellos que no eran consumidores habituales de edulcorantes no nutritivos (n=3). Dentro de los consumidores habituales de edulcorantes, el 42,9% consumía el edulcorante estevia, 28,6% sucralosa, el 14,3% consumía una combinación de sucralosa + estevia, y el 7,1% consumía sacarina o aspartame. Al comparar el ABC de glicemia, insulinemia y GLP-1 entre los consumidores habituales y los no consumidores habituales de edulcorantes, el ABC de la glicemia con pre-carga de sucralosa fue significativamente menor en consumidores habituales ( $30486 \pm 7649$  mg.h/dL) contra consumidores no habituales ( $35811 \pm 8008$  mg.h/dL),  $p= 0,038$ ; pero no así para las pre-cargas de agua ni de estevia. En cuanto al ABC de la insulinemia y de GLP-1 no hubo diferencias significativas entre los grupos para las distintas pre-cargas.

Considerando que sólo hubo diferencias significativas cuando se separó el grupo entre CH y NCH en el ABC de la glicemia pre-carga de sucralosa, es que se decidió realizar todos los análisis considerando el total del tamaño muestral (n=17 sujetos), para los siguientes análisis.

En la Figura 1 se detalla la percepción del sabor dulce, amargo o metálico en una escala del 0 al 10, donde el 0 corresponde a ausencia de sensación y 10 es la máxima sensación del respectivo sabor, al beber la precarga de 60 ml de agua pura, 60 ml de agua + 48 mg de sucralosa y 60 ml de agua + 96 mg de estevia. Se obtuvo que los edulcorantes no se diferenciaron significativamente en el grado de dulzor. En relación al sabor amargo, la estevia presentó mayor grado de amargura y se diferenció significativamente del agua y de la sucralosa. No hubo diferencias para el sabor metálico entre los distintos tratamientos (Figura 1).

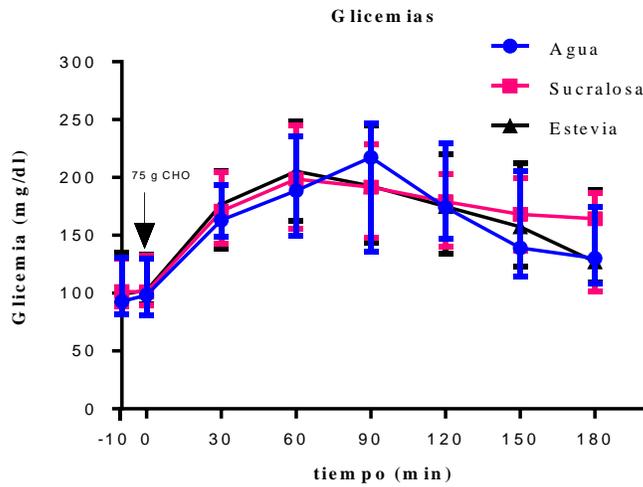
**Figura 1**– Percepción del sabor dulce, amargo y metálico en una escala del 0 al 10, en sujetos con DM2 (n = 17) al ingerir estevia, sucralosa o agua. *Datos expresados como Mediana (Q1-Q3)*. a,b: Letra distinta indica diferencias significativas entre los distintos tratamientos de precargas de agua, sucralosa y estevia ( $p < 0,01$  se utilizó test de Friedman, seguido por Wilcoxon y ajustado por Bonferroni).



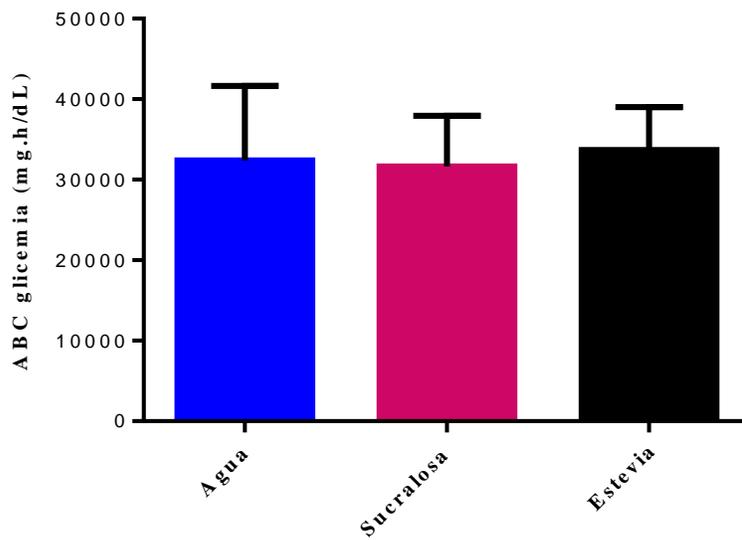
## 6.2 Evaluación de la glicemia e insulina frente a los tratamientos

Los sujetos al ingerir una precarga de agua, sucralosa o estevia presentaron en cada tiempo evaluado, glicemias similares, sin diferencias significativas. Tampoco hubo diferencias en el ABC según tratamiento (Figura 2a y Figura 2b). Se observó lo mismo con la concentración de insulina y el ABC de insulina en los distintos tratamientos y por tiempo (Figura 3a y Figura 3b).

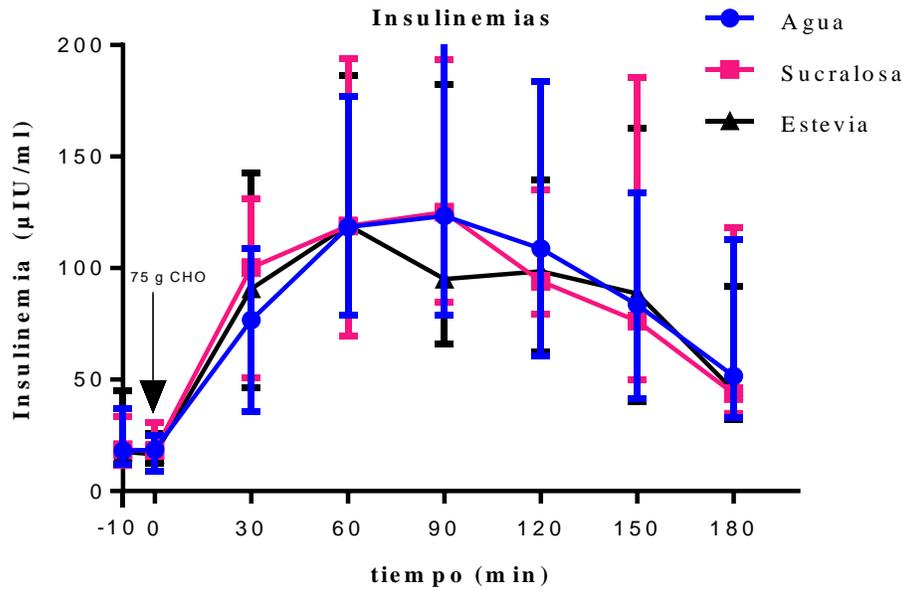
**Figura 2a**– Niveles de glicemia en sujetos con DM2 sometidos al efecto de una pre-carga de agua, sucralosa o estevia sumado a una comida mixta de prueba (n = 17). g CHO: gramos de hidratos de carbono; DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. *Datos expresados como Mediana (Q1-Q3)*.



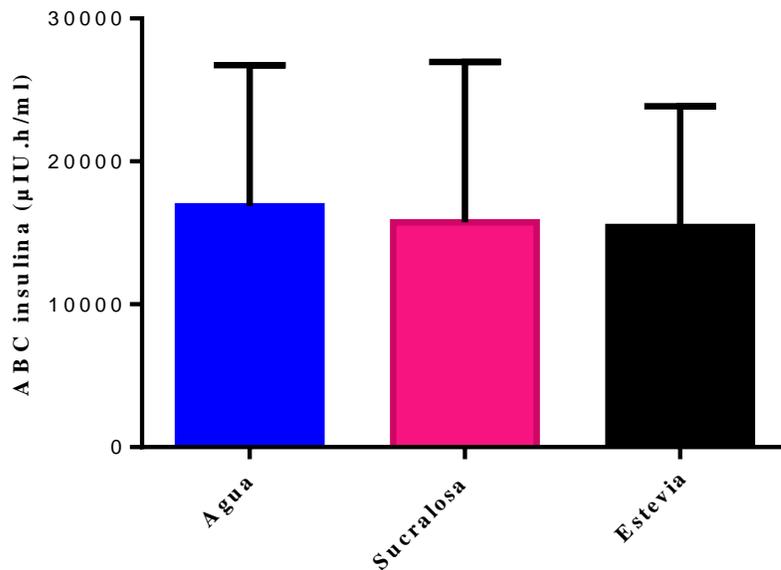
**Figura 2b**– Área bajo la curva de la glicemia en sujetos con DM2 sometidos al efecto de una pre-carga de agua, sucralosa o estevia y sumado a una comida mixta prueba (n = 17). DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. *Datos expresados como Mediana (Q1-Q3)*.



**Figura 3a**– Niveles de insulina en sujetos con DM2 sometidos al efecto de una pre-carga de agua, sucralosa o estevia y sumado a una comida mixta de prueba (n = 17). g CHO: gramos de hidratos de carbono. DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. Datos expresados como Mediana (Q1-Q3).



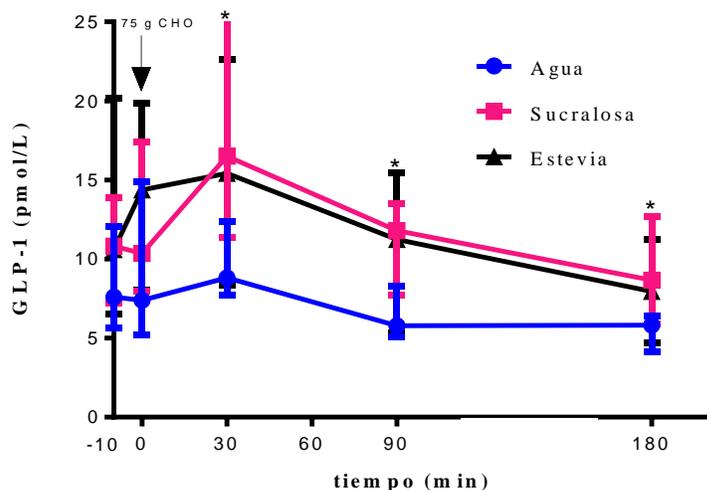
**Figura 3b**– Área bajo la curva de la insulinemia en sujetos con DM2 sometidos al efecto de una pre-carga de agua, sucralosa o estevia y sumado a una comida mixta prueba. (n = 17). DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. Datos expresados como Mediana (Q1-Q3).



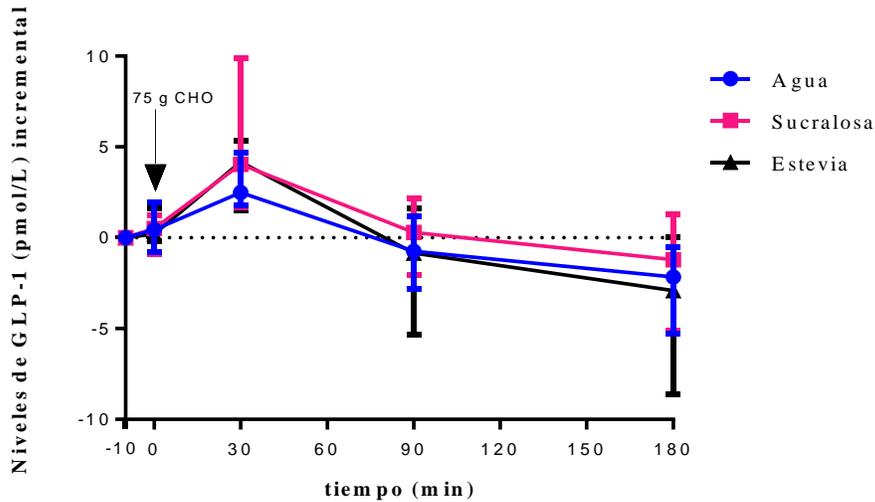
### 6.3 Evaluación de los niveles de GLP-1 frente a los tratamientos

A pesar de que en el tiempo -10 y 0 no hay diferencias significativas en la concentración de GLP-1, los sujetos tendieron a comenzar con concentraciones basales más elevadas de GLP-1 en los días en que se probaron los edulcorantes como pre-carga. (Figura 4a). Por esta razón se decidió presentar la información restando el nivel basal a cada uno de los tiempos, de manera de obtener la curva incremental de GLP-1 en relación a cada pre-carga de tratamiento (Figura 4b). Al realizar los análisis se obtuvo que no hay diferencias significativas para ninguno de los tiempos ni tratamientos. Lo mismo ocurrió al observar el área bajo la curva incremental (ABCi) de GLP-1 para cada tratamiento; ABCi pre-carga agua 131 (60-374) pmol.h/L, ABCi pre-carga sucralosa 322 (101-1102) pmol.h/L y ABCi pre-carga estevia 266 (102-397) pmol.h/L (Figura 4c).

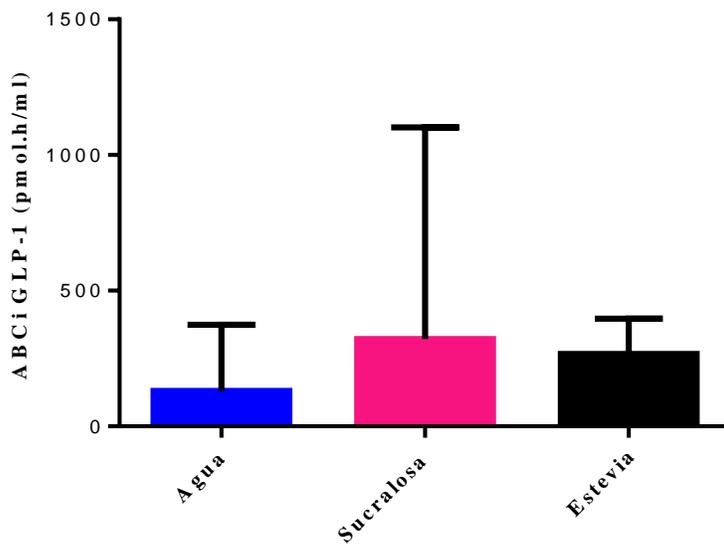
**Figura 4a**– Niveles de la incretina GLP-1 en sujetos con DM2 sometidos al efecto de una pre-carga de agua, sucralosa o estevia y sumado a una comida mixta (n = 17). g CHO: gramos de hidratos de carbono. DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. Datos expresados como Mediana (Q1-Q3).



**Figura 4b**– Niveles de la incretina GLP-1 incremental en sujetos con DM2 sometidos al efecto de una pre-carga de agua, sucralosa o estevia y sumado a una comida mixta (n = 17), valores incrementales (diferencias respecto el nivel basal). g CHO: gramos de hidratos de carbono. DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. *Datos expresados como Mediana (Q1-Q3)*.



**Figura 4c**– Área bajo la curva incremental (ABCi) de los niveles de GLP-1 en sujetos con DM2 sometidos al efecto de una pre-carga de agua, sucralosa o estevia y sumado a una comida mixta (n = 17). DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. *Datos expresados como Mediana (Q1-Q3)*.



## 6.4 Evaluación objetiva del apetito

Se cuantificó la cantidad de alimentos consumida por los sujetos posterior a cada curva de tratamiento, para medir el apetito de manera objetiva en los 17 pacientes estudiados, estimando la ingesta de energía, proteínas, hidratos de carbono y lípidos totales (Tabla 2). Se observó, que posterior a la curva de tratamiento con precarga de estevia, los individuos consumieron significativamente más energía que cuando recibieron la precarga de agua ( $p=0,028$ ), sin embargo, no hubo diferencias con la precarga de sucralosa. Al analizar los macronutrientes se obtuvo que esta energía provenía de los lípidos principalmente, puesto que la ingesta de lípidos fue la única ingesta significativamente mayor con la precarga de estevia, que con la precarga de agua ( $p=0,039$ ). La ingesta de hidratos de carbono con la precarga de estevia fue significativamente mayor que con la precarga de sucralosa ( $p=0,034$ ). No hubo diferencias significativas en la ingesta de proteínas entre los tratamientos. No hubo ninguna diferencia significativa entre la ingesta de macronutrientes con la precarga de agua, versus la precarga de sucralosa.

**Tabla 2**  
*Ingesta dietética de energía y macronutrientes en sujetos con DM2 de la comida entrega a voluntad de ingesta posterior a cada curva de tratamiento con la pre-carga de agua, sucralosa o estevia (n=17)*

<i>Variable</i>	<i>Agua</i>	<i>Sucralosa</i>	<i>Estevia</i>
Energía (kcal)	485 ± 214 <sup>a</sup>	552 ± 235 <sup>ab</sup>	592 ± 230 <sup>b</sup>
Proteínas (g)	25 ± 12,2 <sup>a</sup> (20,8 ± 5,1%)*	30 ± 13,1 <sup>a</sup> (22 ± 3,5%)*	32 ± 11,9 <sup>a</sup> (22 ± 3,1%)*
Hidratos de carbono (g)	48,4 ± 23,5 <sup>ab</sup> (38,4 ± 9,8%)*	49 ± 24,7 <sup>a</sup> (36 ± 8,2 %)*	58 ± 27,3 <sup>b</sup> (38 ± 6,3%)*
Lípidos (g)	21,4 ± 9,8 <sup>a</sup> (40,8 ± 8,0%)*	26 ± 11 <sup>ab</sup> (42 ± 6,6%)*	25,7 ± 9,3 <sup>b</sup> (40 ± 5,7%)*

Datos expresados como promedios ± DE

\* % valor calórico total

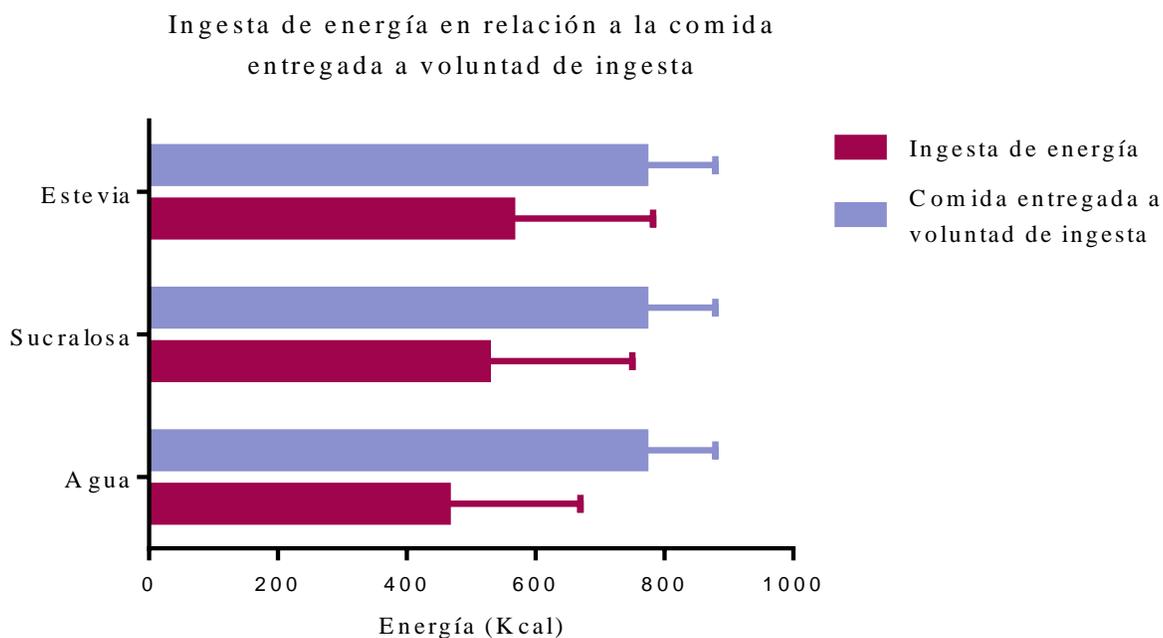
DM2: Diabetes *Mellitus* tipo 2

Se utilizó *Anova* de medidas repetidas para determinar diferencias entre las distintas precargas, seguido por Bonferroni

a,b: Letra distinta en superíndice indica diferencias significativas entre los distintos tratamientos de precargas de agua, sucralosa y estevia ( $p<0,05$ )

A pesar de que no se entregaron los alimentos *ad libitum* (detalle en metodología), los sujetos no ingirieron la totalidad de los alimentos entregados (Figura 5). Es importante destacar que con la pre-carga de estevia los sujetos, terminaron la curva y consumieron significativamente más energía cuando se le comparó con el estándar (pre-carga agua).

**Figura 5**– Ingesta de energía en relación a la comida entregada a voluntad de ingesta en sujetos con DM2 sometidos al efecto de la pre-carga de agua, sucralosa o estevia sumado a la comida mixta de prueba (n = 17). DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. Datos expresados como *Promedios ± DS*.

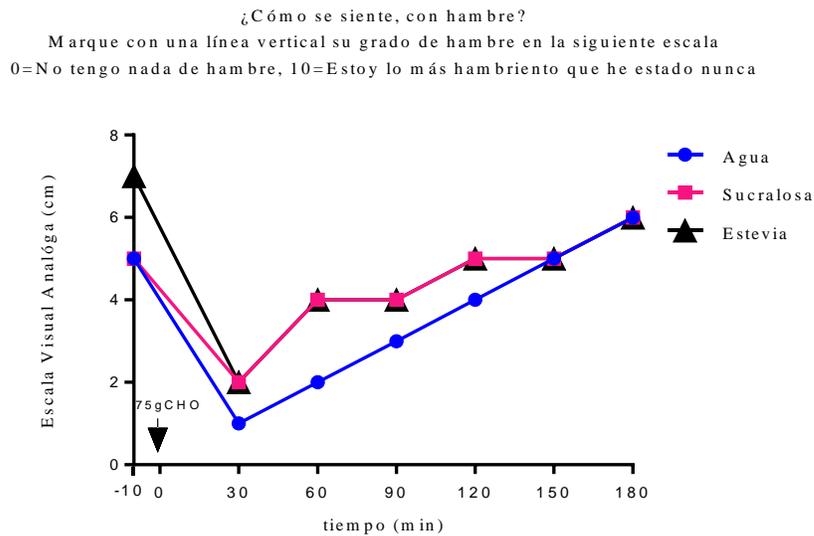


### 6.5 Evaluación subjetiva del apetito

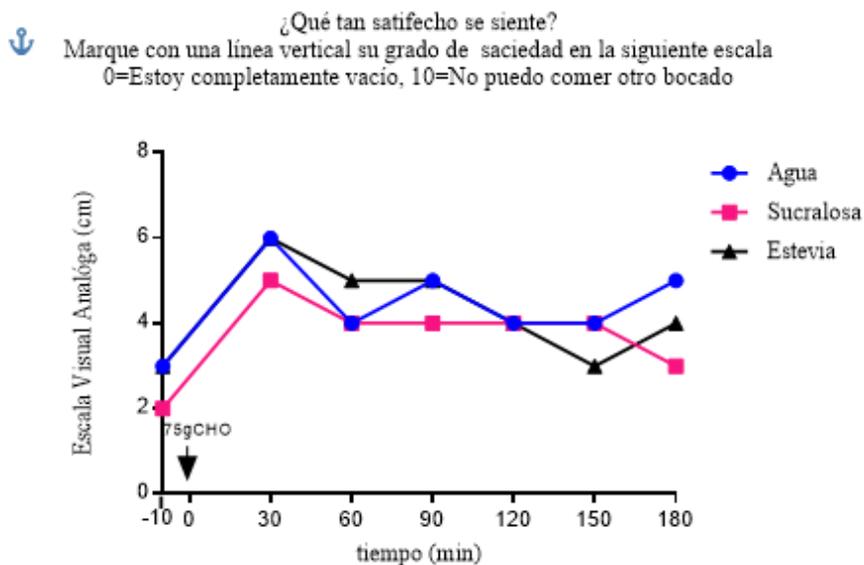
En el caso de la sensación de hambre subjetiva, hubo una tendencia a ser más alta la puntuación desde el minuto 30 al 120 para los edulcorantes, tendencia que desapareció a los 150 y 180 minutos, donde los edulcorantes se equipararon a la precarga agua. Al evaluar diferencias entre los tiempos según tratamientos respecto a la sensación subjetiva de hambre se observó que en el tiempo -10 min, en el nivel basal de la pre-carga agua, una puntuación de 5

cm (1,5-6) , que se diferenci6 significativamente del nivel basal de la pre-carga estevia de 7 cm (3,5-8) ( $p = 0,017$ ) que corresponde a sentirse bastante hambriento, diferencia que desapareci6 a los 30 minutos, puesto que al tiempo 0 los sujetos consumían la comida mixta de prueba. A los 60 min la pre-carga de agua fue de 2 cm (0-4) se diferenci6 significativamente de la pre-carga sucralosa de 4 cm (1,5-4,5) ( $p = 0,011$ ) donde la sensaci6n de hambre era mayor, al minuto 90 la pre-carga de agua de 3 cm (0,5-4,5) se diferenci6 significativamente de la pre-carga estevia de 4 cm (2-6)) ( $p = 0,016$ ) ligeramente m1s hambriento, en los siguientes tiempos no hubo diferencias entre los tratamientos (Figura 6). En el caso de la sensaci6n de saciedad, s6lo hubo diferencias significativas entre los tratamientos en el minuto 60, donde la pre-carga de sucralosa de 4 cm (2,5-6) se diferenci6 significativamente de la pre-carga estevia de 5 cm (5-7) ( $p = 0,015$ ) bastante satisfecho (Figura 7). La plenitud subjetiva fue semejante entre los tratamientos, sin diferencias estadísticas significativas (Figura 8). Cuando se les pregunt6 a los sujetos del estudio sobre cuanto creían que podían comer, hubo una tendencia a un grado de deseo mayor de ingerir alimentos con la precarga estevia desde el minuto 30 al 150 cuando se le compara con el agua; en cambio con la sucralosa fue semejante desde el minuto 90 al 150, donde el deseo de comer fue en aumento. S6lo hubo diferencias significativas al minuto 120 donde el deseo de comer fue significativamente mayor para la pre-carga estevia de 6 cm (3,5-8) cuando se compar6 con la pre-carga de agua de 4 cm (3,5-6,5) ( $p = 0,015$ ) (Figura 9). A los 180 minutos se equipar6 el deseo de comer para los distintos tratamientos.

**Figura 6**– Sensación de hambre según Escala visual análoga en sujetos con DM2 sometidos al efecto de la pre-carga de agua, sucralosa o estevia sumado a la comida mixta de prueba (n = 17). DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. g CHO: gramos de hidratos de carbono. *Datos expresados como Mediana.*

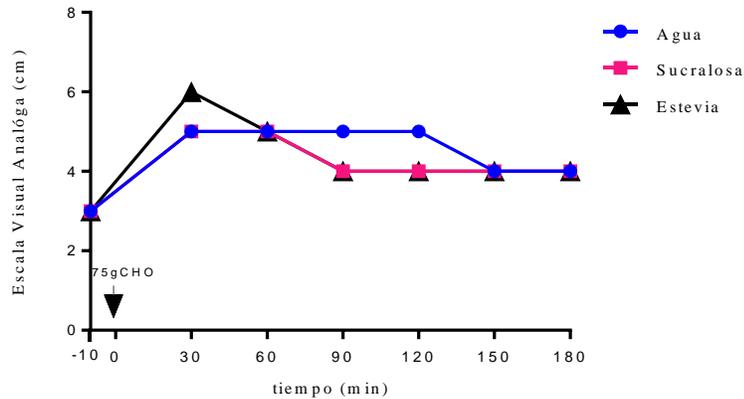


**Figura 7**– Sensación de saciedad según Escala visual análoga en sujetos con DM2 sometidos al efecto de la pre-carga de agua, sucralosa o estevia sumado a la comida mixta de prueba (n = 17). DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. g CHO: gramos de hidratos de carbono. *Datos expresados como Mediana.*



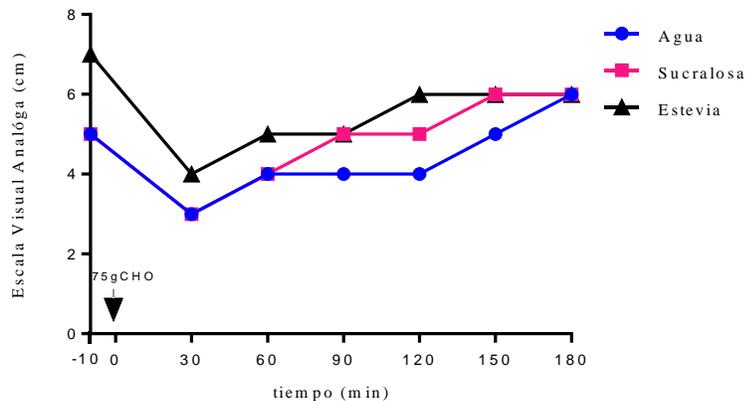
**Figura 8**– Sensación de plenitud según Escala visual análoga en sujetos con DM2 sometidos al efecto de la pre-carga de agua, sucralosa o estevia sumado a la comida mixta de prueba (n = 17). DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. g CHO: gramos de hidratos de carbono. *Datos expresados como Mediana.*

¿Qué tan pleno se siente?  
 Marque con una línea vertical su grado de plenitud en la siguiente escala  
 0=No tengo nada de sensación de plenitud, 10=Tengo la mayor sensación de plenitud que he tenido nunca



**Figura 9**– Deseo subjetivo de ingerir algún alimento en relación a su cantidad según Escala visual análoga en sujetos con DM2 sometidos al efecto de la pre-carga de agua, sucralosa o estevia sumado a la comida mixta de prueba (n = 17). DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. g CHO: gramos de hidratos de carbono. *Datos expresados como Mediana.*

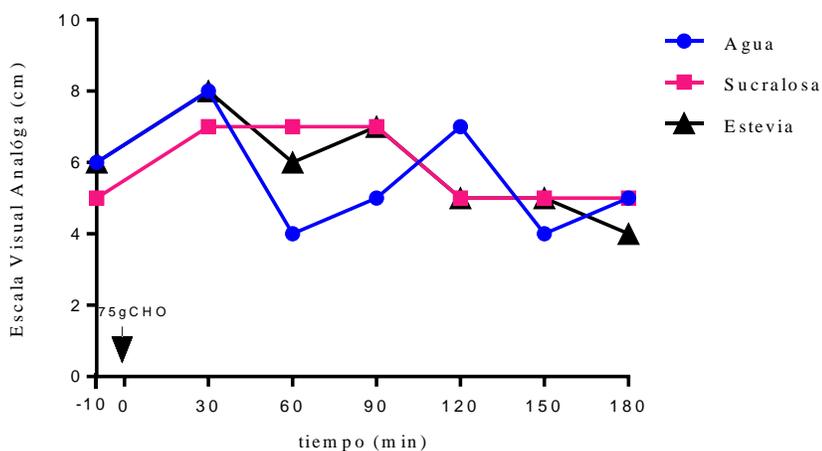
¿Cuánto cree que puede comer?  
 Marque con una línea vertical su grado de deseo de ingerir algún alimento en la siguiente escala  
 0 = Nada en absoluto, 10 = Una gran cantidad



Al preguntarles por el deseo de ingerir algo dulce, donde ahora la puntuación 0; era sí, mucho y la puntuación 10; no, en absoluto, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Figura 10). Cuando se les preguntó por el deseo de ingerir algo salado, tampoco hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Figura 11). El deseo de comer algo sabroso, solamente se diferenció significativamente entre la pre-carga de agua (8 cm (4,5-10)) y estevia (5 cm (2-8)) ( $p = 0,012$ ) al minuto 30, en el resto de los tiempos no hubo significancia estadística (Figura 12). En el caso del deseo de comer algo graso para cada tratamiento la respuesta fue negativa en todos los tiempos, pero con una tendencia a menor puntuación con la pre-carga estevia (7 cm (2,5-10)) que se diferenció significativamente de la pre-carga sucralosa (9 cm (5,5-10)) ( $p = 0,012$ ) en el minuto 150 (Figura 13)

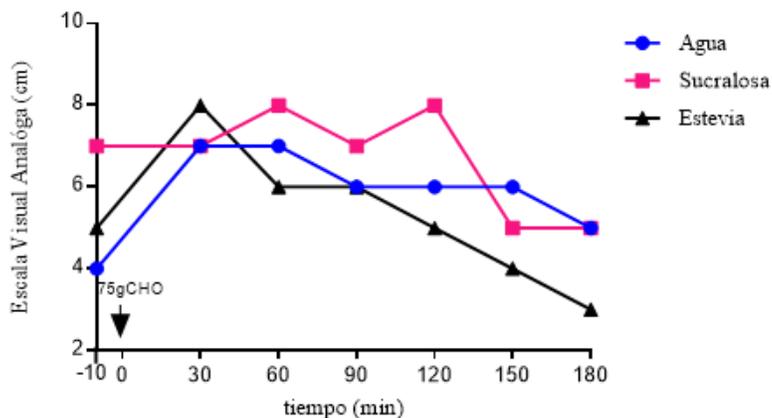
**Figura 10**– Deseo subjetivo de ingerir algún alimento dulce según Escala visual análoga en sujetos con DM2 sometidos al efecto de la pre-carga de agua, sucralosa o estevia sumado a la comida mixta de prueba (n = 17). DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. g CHO: gramos de hidratos de carbono. *Datos expresados como Mediana.*

¿Quiere comer algo dulce?  
 Marque con una línea vertical su grado de deseo de ingerir algo dulce en la siguiente escala  
 0 = Si, mucho, 10 = No, en absoluto



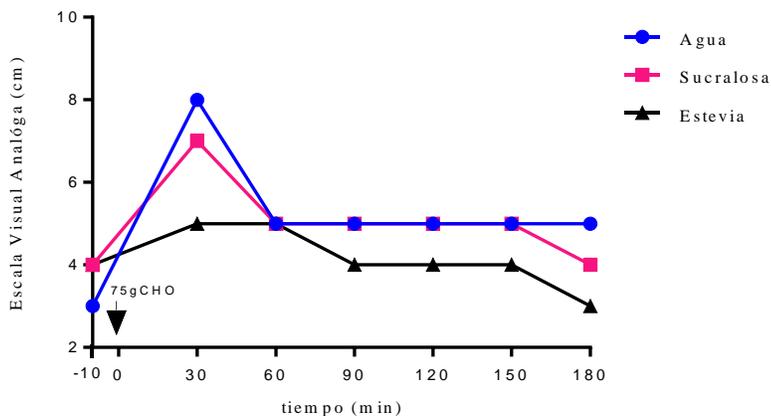
**Figura 11**– Deseo subjetivo de ingerir algún alimento salado según Escala visual análoga en sujetos con DM2 sometidos al efecto de la pre-carga de agua, sucralosa o estevia sumado a la comida mixta de prueba (n = 17). DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. g CHO: gramos de hidratos de carbono. *Datos expresados como Mediana.*

¿Quiere comer algo salado?  
 Marque con una línea vertical su grado de deseo de ingerir algo salado en la siguiente escala  
 0 = Si, mucho, 10 = No, en absoluto



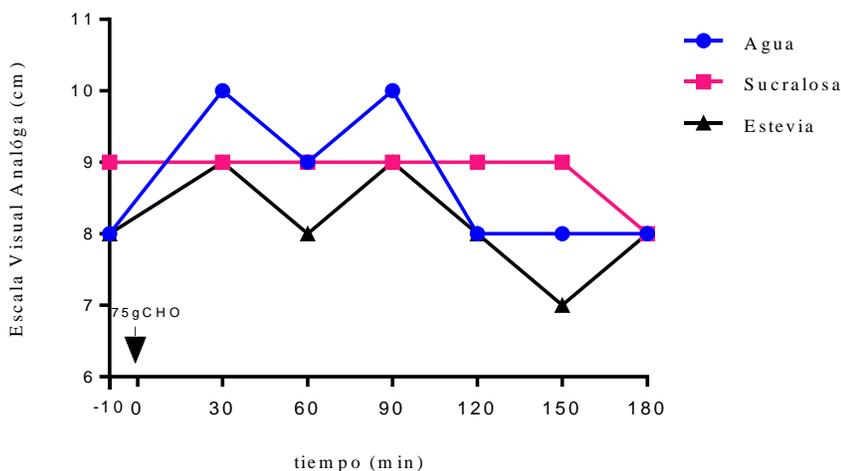
**Figura 12**– Deseo subjetivo de ingerir algún alimento sabroso según Escala visual análoga en sujetos con DM2 sometidos al efecto de la pre-carga de agua, sucralosa o estevia sumado a la comida mixta de prueba (n = 17). DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. g CHO: gramos de hidratos de carbono. *Datos expresados como Mediana.*

¿Quiere comer algo sabroso?  
 Marque con una línea vertical su grado de deseo de ingerir algo sabroso en la siguiente escala  
 0 = Si, mucho, 10 = No, en absoluto



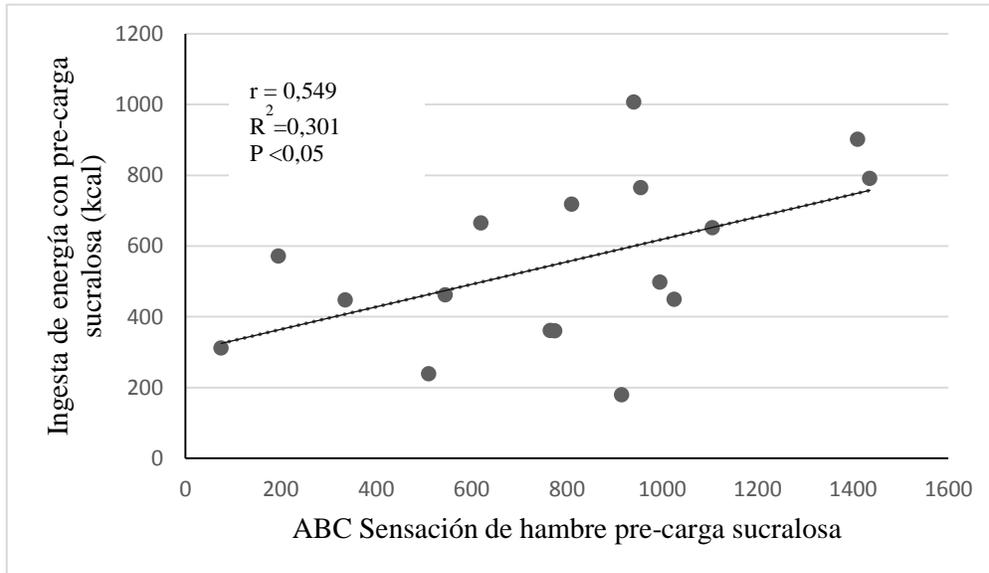
**Figura 13**– Deseo subjetivo de ingerir algún alimento graso según Escala visual análoga en sujetos con DM2 sometidos al efecto de la pre-carga de agua, sucralosa o estevia sumado a la comida mixta de prueba (n = 17). DM2: diabetes *mellitus* tipo 2. g CHO: gramos de hidratos de carbono. *Datos expresados como Mediana.*

¿Quiere comer algo graso?  
 Marque con una línea vertical su grado de deseo de ingerir algo sabroso en la siguiente escala  
 0 = Si, mucho, 10 = No, en absoluto

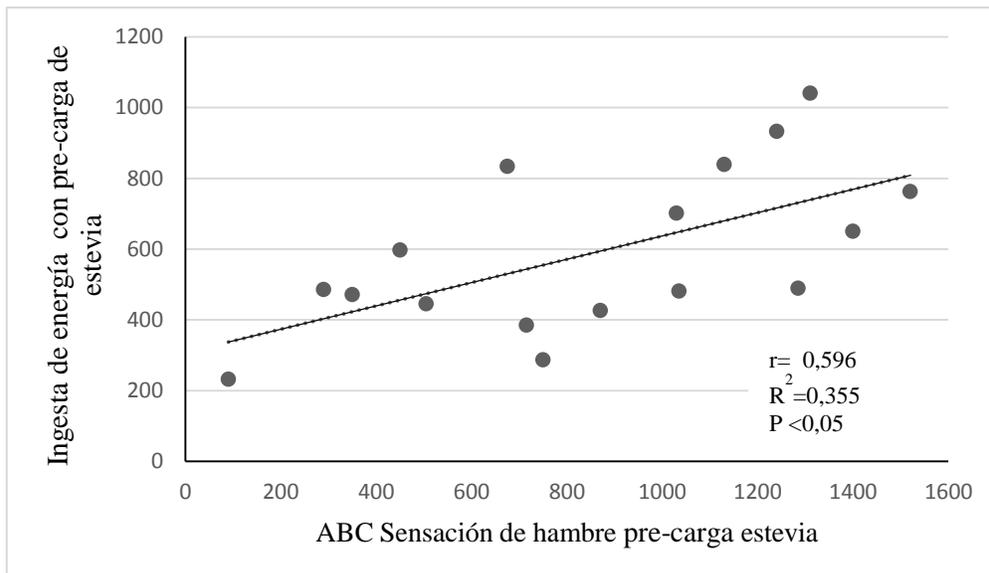


Al correlacionar el área bajo la curva de la glicemia, insulina, y GLP-1 de cada pre-carga, no hubo asociación ni para la EVA, ni para ingesta de alimentos a voluntad. Al correlacionar la cantidad de energía consumida (apetito objetivo), con los parámetros evaluados en la EVA (apetito subjetiva), se observan en las siguientes figuras:

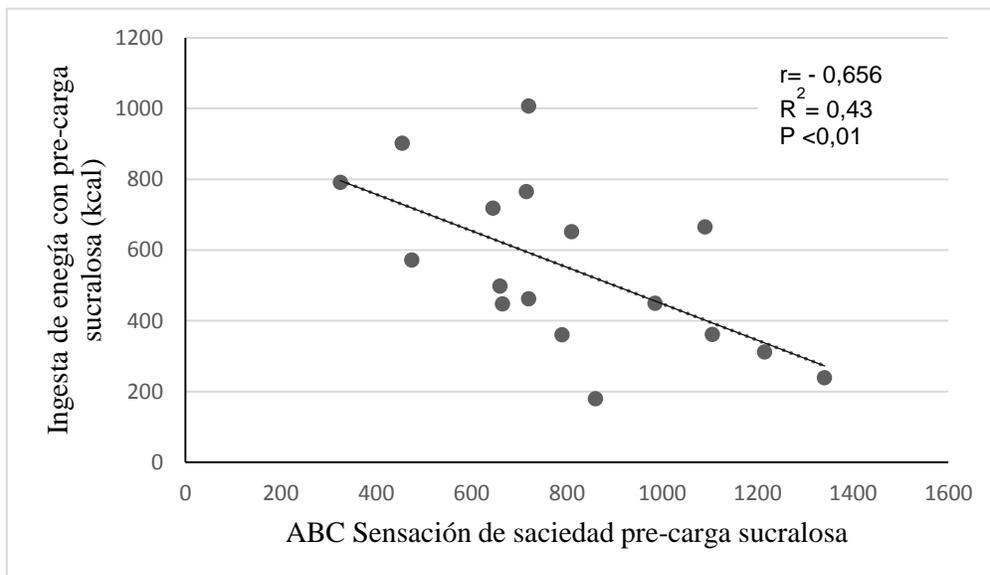
**Figura 14**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) de la sensación de hambre con la pre-carga sucralosa. (n=17).



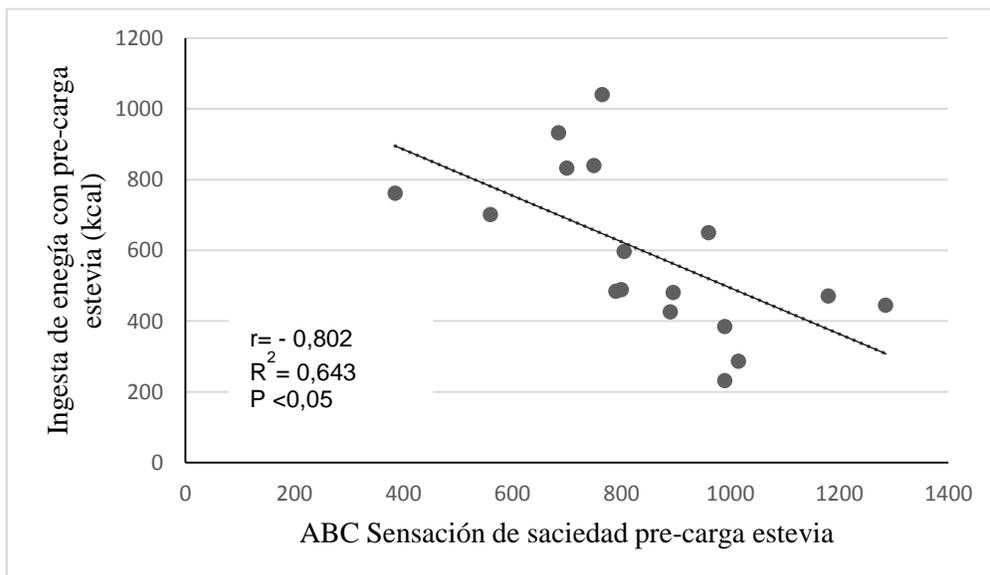
**Figura 15**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) de la sensación de hambre con la pre-carga estevia. (n=17)



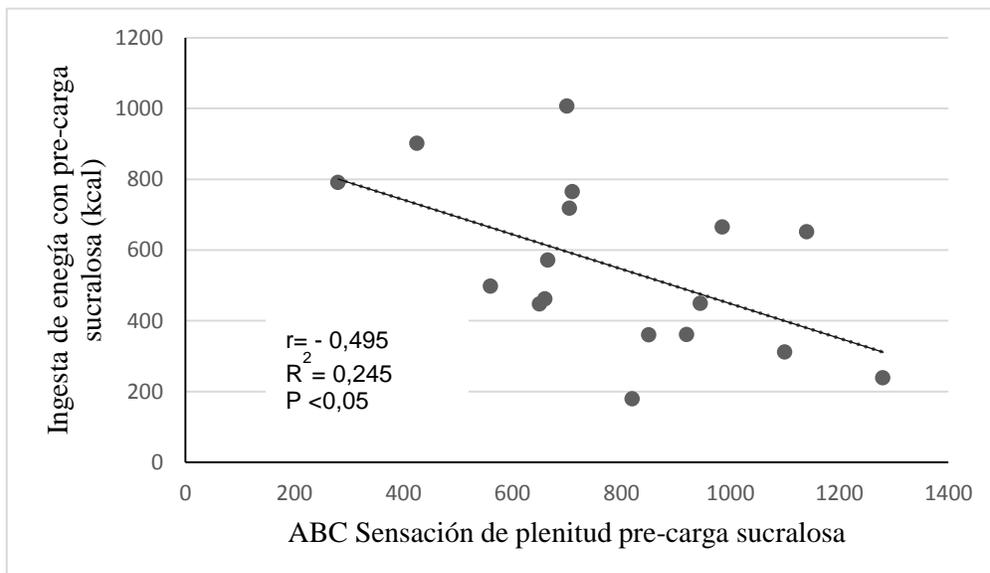
**Figura 16**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) de la sensación de saciedad con la pre-carga sucralosa. (n=17).



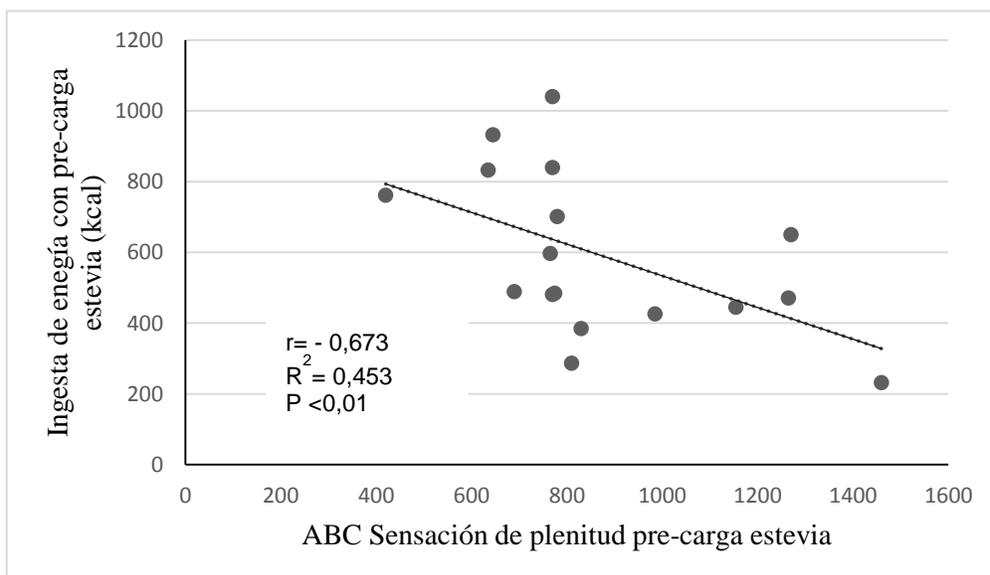
**Figura 17**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) de la sensación de saciedad con la pre-carga estevia. (n=17).



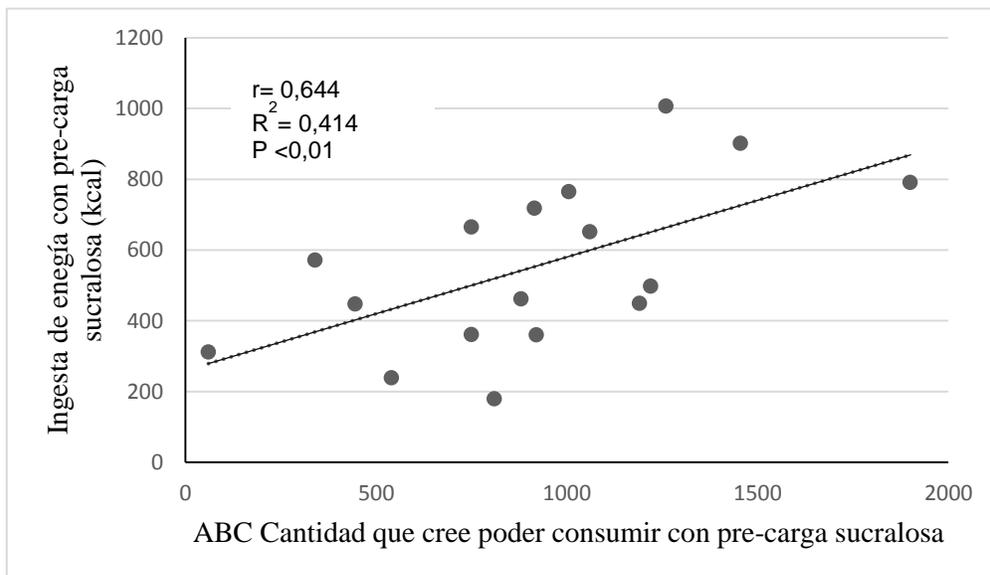
**Figura 18**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) de la sensación de plenitud con la pre-carga sucralosa. (n=17).



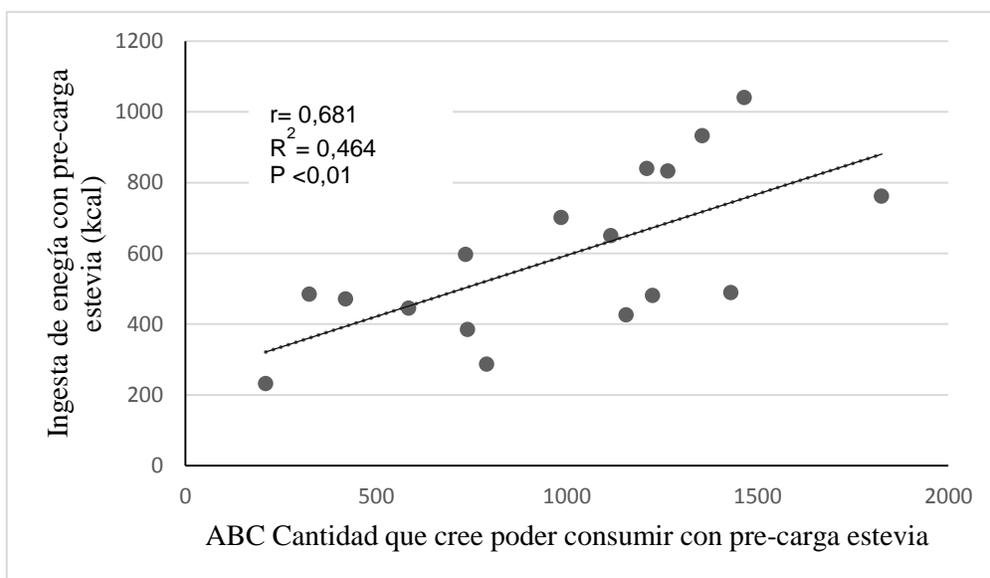
**Figura 19**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) de la sensación de plenitud con la pre-carga estevia. (n=17).



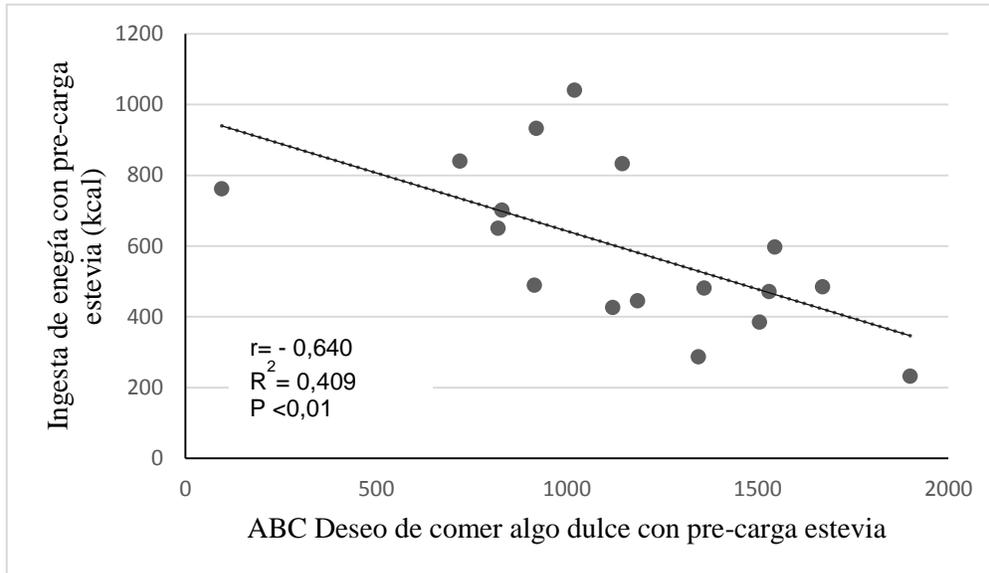
**Figura 20**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) de la cantidad que cree poder consumir con la pre-carga sucralosa. (n=17).



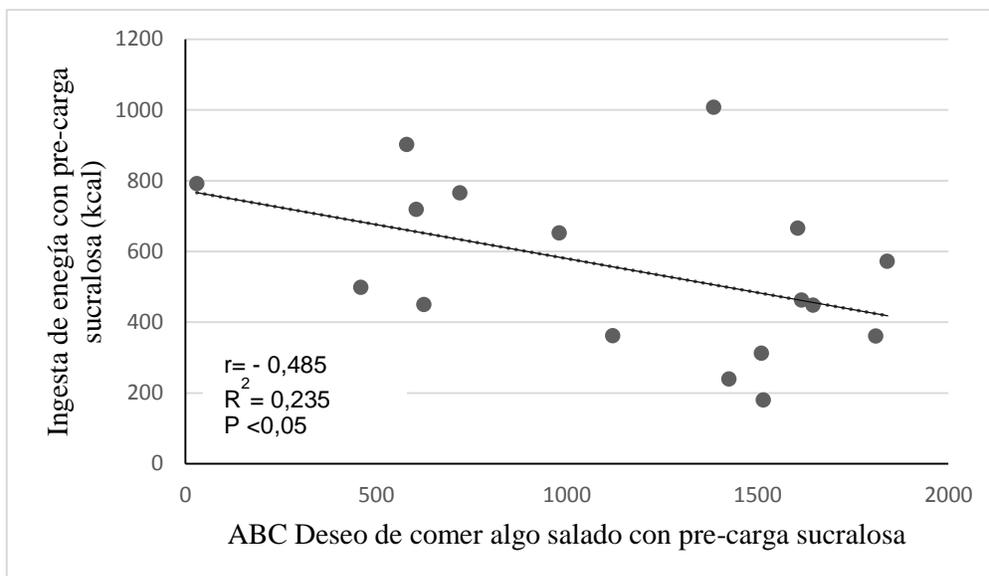
**Figura 21**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) de la cantidad que cree poder consumir con la pre-carga estevia. (n=17).



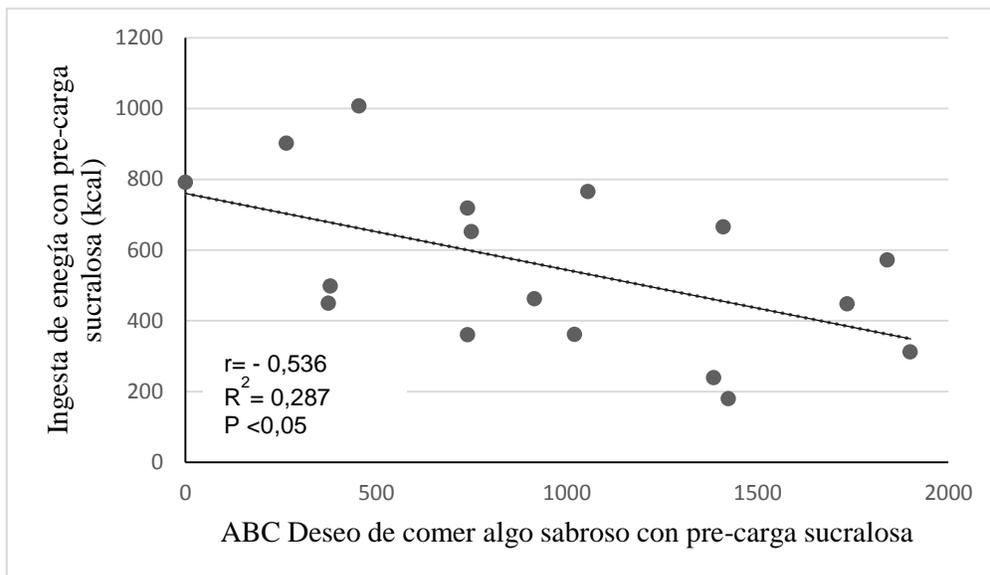
**Figura 22**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) del deseo de comer algo dulce con la pre-carga estevia. (n=17).



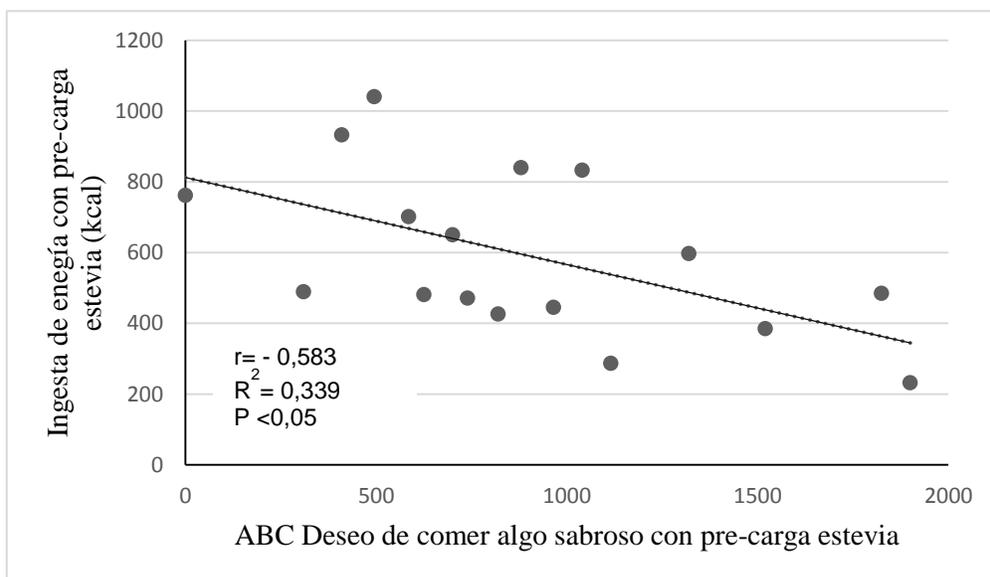
**Figura 23**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) del deseo de comer algo salado con la pre-carga sucralosa. (n=17).



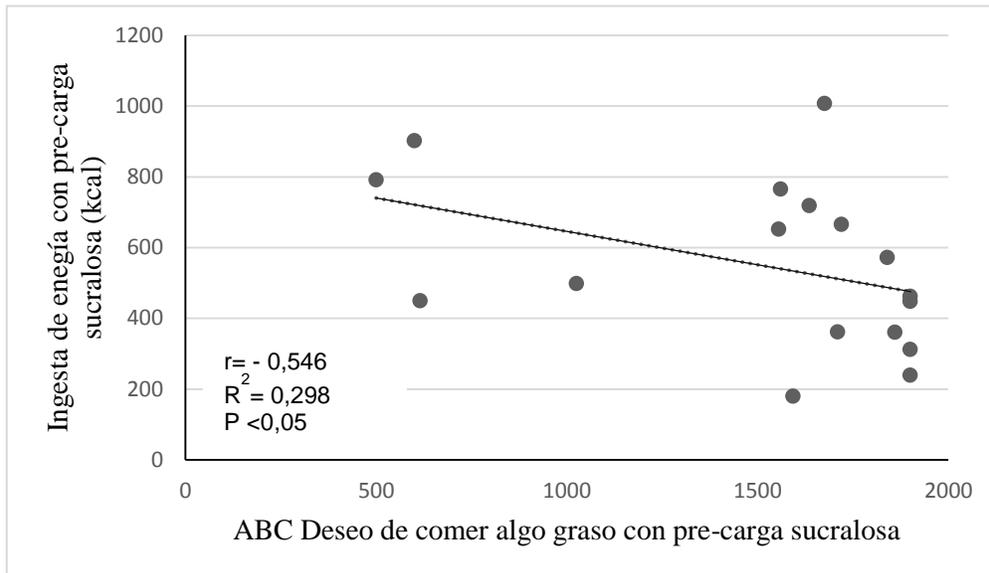
**Figura 24**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) del deseo de comer algo sabroso con la pre-carga sucralosa. (n=17).



**Figura 25**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) del deseo de comer algo sabroso con la pre-carga estevia. (n=17).



**Figura 26**– Asociación lineal entre la ingesta de energía de la comida entregada a voluntad de consumo y el Área bajo la curva (ABC) del deseo de comer algo graso con la pre-carga este-  
via. (n=17).



## 7. DISCUSIÓN

En este estudio se observó que no hubo diferencias al comparar los efectos de la ingesta de estevia versus sucralosa previo a una comida mixta sobre la glicemia, insulinemia, ni GLP-1 en sujetos con DM2. Sin embargo, se pudo observar que con la pre-carga estevia los sujetos tendían a sentir más apetito y compensarlo con la ingesta de alimentos que se entregaron a voluntad de consumo, principalmente lípidos. Esto da señales de que no tendrían un efecto neutro, al menos en el apetito, estos edulcorantes no nutritivos en sujetos con DM2.

La prevalencia de diabetes mellitus a nivel nacional es de 9,4%, siendo más prevalente en mujeres (10,4%), que en hombres (8,4%) (2). En este estudio un 64,7% correspondió a mujeres y un 35,3% a hombres.

Respecto al estado nutricional de la población estudiada, si bien uno de los criterios de inclusión fue que presentaran mal nutrición por exceso, es reflejo de la realidad chilena donde el 39,3% de la población presenta sobrepeso y 25,2% obesidad moderada y severa (2). No obstante, en promedio el 70,6% presentan adecuado control metabólico con hemoglobina glicosilada (HbA1c) dentro de la meta de la ADA  $< 7\%$  (5).

Al dividir los sujetos de estudio entre consumidores habituales de edulcorantes no nutritivos (82,4%) y aquellos que no eran consumidores habituales de edulcorantes no nutritivos (17,6%), sólo hubo diferencias significativas en el área bajo la curva (ABC) de la glicemia con la pre-carga de sucralosa, siendo mayor el ABC en aquellos no consumidores habituales de edulcorantes. En el estudio de *Pepino et al.*, se observó el mismo efecto, en sujetos obesos sin diabetes, que no eran consumidores habituales de edulcorantes, la pre-carga de 48 mg de sucralosa previo a una prueba de tolerancia a glucosa oral, generó un mayor aumento de las concentraciones plasmáticas *peak* de glucosa incrementales cuando se comparó con la pre-carga de agua ( $75,67 \pm 3,6$  vs  $86,48 \pm 5,4$  mg/dL;  $p = 0,03$ ) (25). Sin embargo, en nuestro estudio no hubo diferencias significativas en el ABC de la insulinemia ni de GLP-1 para las distintas pre-cargas, en cambio, en el estudio de Pepino se observaron cambios significativos a nivel de péptido C, concentración de insulina y el ABC total de insulina, que fueron mayores cuando los sujetos consumieron sucralosa que cuando consumieron agua (25). Es importante señalar, que se requieren más estudios que profundicen y aclaren que ocurre en aquellos sujetos que no son consumidores habituales de edulcorantes, cuál es el mecanismo por el cual la sucralosa

ejerce sus efectos en el metabolismo glucídico y que evalúen sus efectos a largo plazo, ya que se ha demostrado en modelos animales que la inclusión crónica de edulcorantes en la dieta eleva la expresión del co-transportador activo de glucosa dependiente de sodio isoforma 1 (SGLT-1), aumentando las respuestas glicémicas (25).

Se deja la interrogante para un siguiente estudio en el que se pueda comparar el efecto de los edulcorantes no nutritivos en aquellos sujetos con DM2 consumidores habituales y aquellos que no son consumidores habituales de edulcorantes, pero con un mayor tamaño muestral.

### **7.1 Percepción del sabor de la pre-carga**

En relación a la percepción del sabor, en este estudio se obtuvo que los edulcorantes no se diferenciaron significativamente en el grado de dulzor, pero sí en el grado de amargor, puesto que como era de esperarse la estevia presentó mayor grado de amargor y se diferenció significativamente del agua y de la sucralosa. Estos resultados eran esperables, porque las dosis entregadas de ambos edulcorantes en este estudio (48 mg de sucralosa; 600 veces más dulce que la sacarosa y 96 mg de estevia; 300 veces más dulce que la sacarosa), se hicieron pensando en que tuviesen equivalencia en el grado de dulzor, debido a que parte de la respuesta metabólica posterior puede pasar por la "percepción" que tenga una persona a la carga de edulcorante, debido a que los receptores de sabor dulce (T1R2,3) responden a edulcorantes no calóricos. Existen respuestas distintas a la concentración de estevia, es decir, a bajas concentraciones se percibe dulzor y a altas concentraciones se percibe sabor amargo, lo que genera menor palatabilidad. En un estudio en que se evaluó a 5 edulcorantes (tagatosa, sacarosa, sucralosa, eritritol, rebaudiósido A), se observó que, en cuanto a la intensidad de dulzor percibido, los edulcorantes de carga (tagatosa, eritritol, sacarosa) tuvieron tasas de crecimiento de dulzura similares (pendientes  $> 1$ ), mientras que los edulcorantes de alta potencia (sucralosa, rebaudiósido A) arrojaron tasas de dulzor mucho más planas (pendientes  $< 1$ ) (51). El rebaudiósido A fue el único edulcorante de amargura notable y sensaciones-químicas similares, que se convirtió progresivamente en intensa amargura al aumentar la concentración (51) y es importante destacar que en el presente estudio la estevia contenía al menos un 60% de rebaudiósido A, lo que explica porque presentó un mayor grado de amargor respecto al agua y sucralosa, además de que se utilizó al doble de concentración respecto a la sucralosa.

## 7.2 Respuesta glicémica e insulinémica

Actualmente, a través de diversos estudios en líneas celulares, roedores y seres humanos, se ha evidenciado que existen mecanismos de detección del sabor a través de la expresión de miembros de la familia de T1R en el tracto gastrointestinal (50). Los edulcorantes artificiales se unen al heterodímero T1R2-T1R3 de sabor dulce expresado en el dominio apical de las células enteroendocrinas K y L (71), activando vías intracelulares que conducen a la secreción del péptido similar al glucagón 1 y 2 (GLP-1 y GLP-2) y polipéptido inhibidor gástrico (GIP), hormonas intestinales llamadas incretinas, que actúan como señales neuronales o paracrinas en los enterocitos cercanos, regulando la inserción del transportador pasivo de glucosa 2 (GLUT 2) y aumentan la expresión de SGLT-1 en la membrana apical de los enterocitos, aumentando la capacidad intestinal de absorción de glucosa y fructosa en el periodo post-prandial (50) (72). Este proceso, regulado por la insulina que se une a su receptor en el enterocito generando la reinternalización de GLUT-2 e impide la inserción de GLUT-2 en la membrana apical, incluso cuando la glucosa del lumen es elevada. La insulina atenúa la absorción transepitelial, lo que limita la magnitud de las excursiones postprandiales de glicemia plasmáticas. Este mecanismo se vuelve ineficiente en el sujeto diabético, puesto que la acción defectuosa de la insulina, ya sea por disminución de la producción del páncreas o por la resistencia del tejido, conduce a la presencia permanente de GLUT-2 funcional en la membrana apical de los enterocitos, lo que refuerza la falta de control glicémico en la diabetes, puesto que una alta tasa de absorción de azúcar se mantiene a pesar de que la glucosa en sangre esté anormalmente elevada (50). Un estudio observó que la sucralosa (1 mM) duplica la absorción de 20 mM de glucosa en cuestión de minutos al triplicar selectivamente GLUT2 apical (50). En el intestino, la activación de T1R2 + T1R3 por sucralosa y bajas concentraciones de glucosa, impulsa a GLUT2 a la membrana apical, incrementando la absorción de glucosa dentro de minutos (50).

Lo que se traduciría en qué si se ingieren edulcorantes artificiales, se esperaría, además del aumento de las incretinas, tener un aumento en la glicemia plasmática al menos con la precarga de sucralosa, en donde el efecto insulino secretor que ejerce GLP-1 a nivel de páncreas, no podría compensar debido a la resistencia insulina propia de estos sujetos con DM2.

Sin embargo, en este estudio en este estudio los sujetos al ingerir una precarga de agua, sucralosa o estevia presentaron en cada tiempo evaluado, glicemias similares, sin significación estadística al evaluar cada tiempo y el área bajo la curva (ABC) según tratamiento. Lo mismo

ocurrió con la concentración de insulina y el ABC de insulina en los distintos tratamientos y por tiempo, en donde no hubo diferencias significativas entre tratamientos. Respecto a esto es importante señalar que los estudios en sujetos con diabetes son limitados.

Dentro de la evidencia descrita (Tabla 4), la mayoría de los estudios *in vitro* mostraron que los edulcorantes no nutritivos (ENN), pueden provocar la secreción de incretinas en las células enteroendocrinas. En roedores sin diabetes, los ENN aumentaron la tasa intestinal de absorción de glucosa, pero no alteraron la secreción de incretinas en ausencia de glucosa. Se plantea que los edulcorantes artificiales en combinación con azúcares metabolizables actúan sobre el heterodímero T1R2-T1R3 de sabor dulce, activando una vía de señalización que estimula la secreción de incretinas y otros productos endocrinos, provocando efectos positivos a nivel del metabolismo glicémico (50) (73).

En cambio, la mayoría de los estudios en humanos sin diabetes no han detectado efectos de los ENN en las hormonas intestinales o en absorción de glucosa (73). Un estudio en que se comparó los niveles de transcripción absolutos de T1R2, T1R3 en la mucosa gastrointestinal de sujetos con y sin DM2 observó que esta expresión de moléculas de "sabor" disminuye en los sujetos diabéticos con niveles elevados de glucosa en sangre, lo que indica que la señalización intestinal del "sabor" está bajo el control metabólico dinámico y luminal (74). Por lo que en sujetos con DM2 que ingieren edulcorantes no nutritivos, se podría esperar menor respuesta a nivel de transcripción de receptores de sabor dulce.

Un estudio a corto plazo en individuos diabéticos en que la administración de una cápsula de 1000 mg de sucralosa o placebo de celulosa, seguido de un desayuno estandarizado líquido de 360 kcal no afectó negativamente el ABC de la glicemia ni los niveles séricos de péptido-C, resultado que se condice con este estudio (17). Tres estudios en humanos, mostraron que no hubo ningún efecto sobre la respuesta glicémica y los niveles plasmáticos de los lípidos cuando se añadieron edulcorantes no nutritivos (ENN) a la dieta de adultos con diabetes en comparación con una dieta control (16) (17) (18). Otro estudio a largo plazo en que se suplementó con sucralosa (667 mg al día) por 3 meses no alteró la HbA1c ni la glicemia de ayuno en individuos con DM2. Del mismo modo, no hubo tendencias que podrían sugerir un efecto negativo en el control de la glicemia (18).

Un estudio en que se comparó a 8 sujetos recién diagnosticados con DM2 sin tratamiento farmacológico con 8 sujetos sanos, sometidos a una prueba de tolerancia a la glucosa

oral, 3 días distintos previa pre-carga de 72 mg de aspartame o 24 mg de sucralosa en 200 ml de agua o 200 ml de agua solamente en un orden aleatorizado, demostró que la sucralosa aumenta la liberación de GLP-1 y disminuye la glucosa en sangre en presencia de hidratos de carbono en sujetos sanos, pero al igual que en el presente estudio en los pacientes con DM2 los valores de ABC totales de glucosa, insulina, péptido C y GLP-1 no fueron estadísticamente diferentes para ninguna de las pre-cargas (75).

Por el contrario, un estudio que incorporó a la dieta de sujetos con DM2 beta-glucanos derivados de la avena más edulcorantes como la sucralosa y fructosa sí logró una mejoría en el metabolismo de la glicemia plasmática, la HbA1c y aumentó el colesterol HDL, pero el efecto puede ir ligado a la fibra, más que al edulcorante (19).

No obstante, dos estudios a largo plazo que evaluaron el efecto del uso de glicósidos de esteviol (rebaudiósido A) en comparación con un placebo, reportaron que no tiene efectos significativos sobre la glicemia, HbA1c, presión arterial, y el peso corporal en personas con DM2 (45) (46). En cambio, un estudio que comparó la suplementación de 1 gramo de esteviósido con 1 gramo de almidón de maíz (control) en una comida de prueba estándar respectivamente, reportó que el esteviósido reduce la glicemia postprandial y tiende a potenciar la secreción de insulina en pacientes con DM2 (39). Sin embargo, un estudio posterior informó que la glicemia de ayunas y la HbA1c no se redujo significativamente por la ingesta de 1,5 gramos diarios de esteviósido en comparación con el placebo (47).

Y en este estudio la dosis fue de 96 mg, dosis muy baja comparada con los 1000 mg, en que, si se vio efecto reductor en la glicemia postprandial. La diferencia puede ir ligada a que las dosis utilizadas en este estudio fueron pensadas en asimilar la ingesta real de un paciente por tiempo de comida, y que las dosis utilizadas fuesen equivalentes en dulzor a un refresco típico de dieta.

A diferencia del presente estudio, en modelos de roedores los componentes dulces de la hoja de estevia se han asociado al aumento de la sensibilidad a la insulina (37) y en sujetos no diabéticos por tener efectos beneficiosos en la glicemia y en los niveles de insulina (38) (39). La ingesta de extractos de la planta de *stevia rebaudiana bertonii* (SRB) durante 3 días redujo significativamente los niveles de glicemia durante la prueba de tolerancia a la glucosa oral y después de un ayuno nocturno en sujetos sanos (38).

Pero en este caso que son DM2 en su mayoría consumidores habituales de edulcorantes, puede haber algún tipo de adaptación a la carga del edulcorante y por eso la ingesta de una pre-carga de sucralosa o estevia y después del consumo de una comida mixta de prueba no generó cambios en las respuestas glicémicas postprandiales cuando se compara con la pre-carga de agua.

<b>Tabla 4</b> <i>Resumen de estudios que evalúan el efecto de los edulcorantes no nutritivos (ENN) sobre la glicemia e insulinemia</i>		
<b>Sujetos/Modelos</b>	<b>Duración-Intervención</b>	<b>Resultados</b>
<b>Sujetos con y sin DM2</b>	Biopsias MGI niveles de transcripción absolutos T1R2, T1R3, proteína-G alfa-gustducin (G alfa (ráfaga)) y el canal de iones potencial receptor transitorio, TRPM5.	moléculas de “sabor” ↓ en los DM2 con niveles ↑ de glicemia
<b>13 DM2, 13 DMID</b>	1000 mg de sucralosa o placebo de celulosa + desayuno 360 kcal	No afectó la ABC de glicemia ni péptido C por 4 h
<b>17 DM2</b>	28 g/d de sacarosa o 30 g/d de almidón (isoenergética con sacarosa) y sacarina (dulzor equivalente) por 6 sem	No afectó la respuesta glicémica, insulinica de ayuno
<b>128 DM2</b>	Estudio doble ciego, placebo (celulosa) (n=69) o 667 mg de sucralosa (n=67) 3 meses	No alteró HbA1c, ni glicemia
<b>8 DM2 recién diagnosticados vs 8 sanos</b>	Pre-carga 72 mg de aspartamo o 24 mg de sucralosa en 200 ml de agua o agua sola en orden aleatorizado previo 15 min a PTGO	Sucralosa ↑ la liberación de GLP-1 y ↓ glicemia en presencia de CHO en sujetos sanos, pero no en DM2

<b>16 hombres con DM2</b>	n = 8: Dieta ADA n = 8: Dieta ↓ calorías modificada; sustituto de grasa (beta-glucanos derivados de la avena) y sucralosa + fructosa. por 4 semanas	↓ glicemia, ↓ HbA1c y ↑ el c-HDL con la dieta modificada (efecto ligado a la fibra, + que ENN).
<b>76 sujetos → G1: 16 con DM1, G2: 30 DM2, G3 30 sin diabetes y niveles normales / bajos de PA</b>	cada/G asignado aleatoriamente a 250 mg de estevósido por 3 v/d o placebo por 3 meses.	Sin ≠ post-tto en la glicemia y HbA1c.
<b>122 DM2</b>	1000 mg rebaudiósido A (n = 60) vs placebo (n = 62) por 16 sem	No hubo ≠ en la homeostasis de glicemia.
<b>12 DM2 (estudio cruzado)</b>	Comida de prueba estándar + 1 g de estevósido o 1 g de almidón de maíz (control).	Comparado con el control, estevósido ↓ el ABCi glicemia en un 18% (p = 0,013).
<b>Ratas diabéticas</b>	Administración oral de estevósido 0,2 mg / kg x 3 v/d en ratas diabéticas con dieta en base a fructosa por 10 días	↑ sensibilidad a la insulina.
<b>16 sujetos sanos</b>	5 g de hojas de estevia cada 6 h por 3 días. PTGO antes y después de la administración del extracto.	El extracto ↓ significativamente los niveles de glicemia durante la PTGO y después de un ayuno nocturno.

### 7.3 Respuesta de la incretina GLP-1

Es importante mencionar que la incretina GLP-1 actúa como la principal hormona que aumenta la secreción de insulina, inhibe la secreción de glucagón, retrasa el vaciado gástrico suprimiendo el apetito y promueve la saciedad (71). Una vez que ha sucedido el acoplamiento de GLP-1 con su receptor, se activa la vía enzimática de la adenilato ciclasa, lo que resulta en el incremento de las concentraciones intracelulares de iones de calcio y AMP-c. En las células

$\beta$  de los islotes pancreáticos, GLP-1 estimula todas las fases de secreción de insulina, incluyendo un aumento en la actividad de la glucocinasa (GK), así como la traslocación de los canales GLUT 2. El efecto de GLP-1 en la liberación de insulina es estrictamente dependiente de glucosa, cesando su efecto secretor en concentraciones plasmáticas de glucosa cercanas a los 80 mg/dL (76).

Sin embargo, en este estudio al evaluar los valores incrementales de GLP-1 por cada tiempo y tratamiento, no se observó diferencias significativas. Esto se explica en parte, porque las concentraciones de GLP-1 en personas que padecen DM2 son aproximadamente de 5 – 10 pmol/L en ayuno, mientras que, en el estado postprandial, éstas se incrementan hasta 15 – 50 pmol/L (77). Rangos postprandiales que no se alcanzaron en este estudio, por ende no se alcanzaría el efecto incretínico óptimo esperado. Y por ende tampoco se vio un efecto en los niveles de insulina y glicemia.

Por otro lado, el GIP aumenta la secreción de insulina dependiente de la glucosa en respuesta a los nutrientes orales y el GLP-2 promueve la proliferación de células intestinales y aumenta la absorción de glucosa (50), parámetros que no se midieron en este estudio. Es importante destacar que los principales determinantes de la glicemia postprandial, son la tasa de vaciado gástrico y la respuesta de la insulina postprandial, de los cuales el 50 % o más son estimulados por la acción del GLP-1 y el GIP (78).

Estudios realizados con mayor número de sujetos y utilizando ensayos de medición capaces de distinguir las formas intactas y degradadas de GLP-1, encontraron una reducción de la respuesta de GLP-1, principalmente dos horas posteriores a la ingesta de nutrientes en sujetos con diabetes respecto a sujetos sin diabetes. No obstante, la diferencia postprandial entre ambos grupos fue tan sólo de 5 pmol/L por lo cual se considera poco probable sea responsable del deterioro tan severo de la secreción postprandial de insulina típicamente observado en individuos con DM2 (76).

Además, un estudio en sujetos sanos, observó que el ABC de GLP-1 fue significativamente mayor al ingerir una bebida del mercado con sucralosa y acelsufamo de potasio frente a agua carbonatada como precarga a una PTGO ( $\Delta$  ABC 7.8 pmol/l x 180 minutos,  $p=0,003$ ) (62). Sin embargo, un estudio en jóvenes con DM1, DM2 y sanos, donde el ABC del GLP-1 fue un 34 % mayor en sujetos sanos ( $p=0,029$ ) y un 43 % en sujetos con DM1 ( $p=0,020$ ), no presentó diferencias significativas en los sujetos con DM2 después de la ingestión de una be-

bida con 190 mg de sucralosa y 108 mg de acesulfamo de potasio en comparación con agua carbonatada antes de una PTGO (79). En sujetos sanos, la contribución cuantitativa de este efecto incretina a la secreción de insulina postprandial en general ha sido estimada en 50-70%, dependiendo del tamaño de la comida y la composición (52). En contraste, una marcada reducción del efecto incretina es característica de los pacientes con DM2, lo que contribuye a la hiperglicemia postprandial en estos pacientes (53).

Además, se ha visto en ratas con DM2 que la administración de esteviósido tanto por vía intravenosa como por vía oral ejerce acciones anti-hiperglicémicas, insulínótropicas y glucagónostáticas (40) (41). Estudios *in vitro* en islotes aislados de ratón mostraron que la liberación de insulina mediada por esteviósido es dependiente de la glucosa plasmática (42). Puesto que el efecto insulínótropico del esteviósido en experimentos con animales se desvaneció en presencia de niveles normales a bajos de glicemia. Se requieren concentraciones de glucosa de al menos 119 mg/dL para la liberación de insulina (42) (43). Sin embargo, en este estudio los sujetos cursaban con glicemias por sobre el rango y aun así no se observó el efecto en aumento de la liberación de insulina, que se podría explicar también por la dosis utilizada en este estudio.

#### **7.4 Ingesta de alimentos entregados a voluntad**

Se observó en este estudio que no hubo diferencias significativas entre la ingesta de macronutrientes y energía entre la pre-carga de agua versus la pre-carga de sucralosa. Este resultado obtenido se condice con un estudio transversal de sólo mujeres que indica que la sucralosa no afecta el apetito en adultos (20) y con un estudio en sujetos sanos que mostró que la ingesta oral de una dosis de sucralosa, que se consume en una dieta normal, no afecta los sentimientos subjetivos de apetito o la ingesta de energía en la próxima comida (64).

Sin embargo, con la pre-carga de estevia se consumía significativamente más energía cuando se comparaba con la pre-carga agua, energía que provenía principalmente de los lípidos. Además, la ingesta de hidratos de carbono con la pre-carga de estevia fue significativamente mayor que con la pre-carga de sucralosa, pero no se diferenció de la pre-carga de agua. No obstante, esto no se condice con un estudio que evaluó el efecto de pre-cargas que contenían estevia (290 kcal), aspartamo (290 kcal) o sacarosa (493 kcal) en sujetos normales y obe-

so; donde se observó que los sujetos al consumir aspartamo o estevia no compensaron comiendo más en la siguiente comida (almuerzo o cena) y presentaron niveles similares de saciedad en comparación con los sujetos que consumieron sacarosa (44).

A modo de ejemplo, en un estudio las personas consumen más energía de una comida *ad libitum* que contiene una serie de alimentos altos en grasa en comparación con los alimentos ricos en hidratos de carbono, lo que sugiere que las propiedades saciantes de las grasas no son tan potentes como las de los otros macronutrientes. Además, un desayuno suplementado con grasa no disminuyó puntuaciones de hambre o la ingesta de energía de un aperitivo proporcionado 90 minutos más tarde en comparación con el desayuno sin la adición de grasa. La observación de que la preferencia por grasa se correlaciona positivamente con el porcentaje de masa grasa sugiere que la palatabilidad de este macronutriente contribuye a su consumo excesivo. En general, la alta palatabilidad y la disponibilidad de la dieta alta en grasa parecen suficientes para impulsar la ingesta de alimentos sin provocar una reducción del tamaño de la porción exacta a través de sus propiedades de saciedad (80).

## **7.5 Percepción subjetiva del apetito**

En este estudio se pudo observar a través de la escala visual análoga (EVA) respecto a la sensación subjetiva de hambre, para las pre-cargas de edulcorantes siempre la puntuación de sensación de hambre fue mayor respecto al estándar agua. Los tiempos donde se vieron las puntuaciones más altas de sensación subjetiva de hambre fue dentro de las primeras dos horas, lo que en un ambiente no regulado, como puede ser la vida habitual se podría traducir en una mayor ingesta de energía con los consecuentes efectos negativos.

En el caso de la sensación de saciedad, sólo hubo diferencias significativas entre los tratamientos en el minuto 60, donde la puntuación de saciedad de la pre-carga de sucralosa fue menor que la pre-carga estevia. La plenitud subjetiva fue semejante entre los tratamientos, sin diferencias significativas. Se discute que los ENN no poseen un poder de saciedad (sensación de plenitud que persiste por un tiempo y nos lleva a permanecer sin comer hasta que retorna la sensación de hambre) como la sacarosa, inclusive podrían causar la sensación de hambre estimulando a comer en exceso, además podrían estimular los receptores del gusto, creando adicción al sabor dulce (32).

Sin embargo, como se mencionó anteriormente, en este estudio, sólo se vio, que las personas consumían significativamente más energía luego de la pre-carga con estevia, lo cual se condice con que hubo una tendencia de los sujetos del estudio a un grado de deseo mayor de ingerir alimentos con la precarga estevia, que se diferenció a las 2 horas respecto de la pre-carga agua. Lo anterior permite sugerir que, si bien en este estudio sólo se vio que objetivamente los sujetos consumían más alimentos al finalizar el tratamiento con la pre-carga de estevia, en un ambiente no regulado, los sujetos hubiesen consumido antes energía, lo que explicaría en parte su exceso de peso.

Respecto el deseo de ingerir algo dulce o salado, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, sólo con la pre-carga sucralosa hubo una tendencia hacia el deseo de consumir algo dulce. El deseo de comer algo sabroso, solamente se diferenció significativamente entre la pre-carga de agua cuando se le comparó con la pre-carga estevia. En el caso del deseo de comer algo graso para cada tratamiento la respuesta fue negativa en todos los tiempos, pero hubo un deseo mayor con la pre-carga estevia.

Al parecer, la disociación de la sensación del sabor dulce y el aporte calórico deficiente producido por los edulcorantes podría condicionar un incremento en el apetito (deseo de ingerir alimento), dando lugar a un mayor consumo energético y ganancia de peso. Esta hipótesis de condicionamiento operativo (Modelo Pavlov) ha podido demostrarse en modelos animales (33) (65).

La palatabilidad de los alimentos y el valor hedónico juegan un papel central en la ingesta de nutrientes. Los efectos post-ingesta pueden influir en las preferencias alimentarias de forma independiente de la palatabilidad, aunque las bases neurobiológicas de estos mecanismos siguen siendo poco conocidos. Un estudio en ratones que carecen de la maquinaria celular necesaria para la transducción del sabor dulce, es decir con TRPM5 - / -, pueden desarrollar una preferencia por las soluciones de sacarosa por sobre una solución de sucralosa, basado únicamente en el contenido calórico. Puesto que este estudio observo que a pesar de que estos ratones no podían distinguir el sabor dulce la ingesta de sacarosa a diferencia de la sucralosa inducía la liberación de dopamina en el estriado ventral de estos ratones, por ende estos preferían consumir sacarosa. Estos hallazgos sugieren que los nutrientes ricos en calorías pueden influir directamente en los circuitos de recompensa del cerebro que controlan la ingesta de alimentos con independencia de la palatabilidad o la transducción de sabor dulce funcional,

porque estos ratones no tenían el receptor TRPM5 y aun así terminaban prefiriendo la sacarosa por sobre la sucralosa (81). Esto es controversial, puesto que la sacarosa en este estudio no generó que consumieran más en la comida entregada a voluntad, en cambio la estevia si, por ende podría haber otro mecanismo que podría influir además de los circuitos de recompensa del cerebro que controlan la ingesta de alimentos con independencia de la palatabilidad o la transducción de sabor funcional.

La importancia de este ensayo clínico, radica en la contribución a la literatura científica respecto de los efectos de una precarga de sucralosa y de estevia frente a una comida mixta de prueba en sujetos con DM2. Si bien los edulcorantes analizados no afectaron la respuesta glicémica, ni de insulina ni GLP-1, se pudo observar que con la pre-carga estevia los sujetos tenían a sentir más apetito y compensarlo con la ingesta de alimentos que se entregaron a voluntad, principalmente lípidos e hidratos de carbono. Esto estimula la realización de estudios adicionales para contribuir y profundizar en las recomendaciones nutricionales actuales de edulcorantes no nutritivos dirigidas a pacientes con DM2.

## 8. CONCLUSIÓN

1. La ingesta de una pre-carga de sucralosa o estevia y después del consumo de una comida mixta de prueba no genera cambios en las respuestas glicémicas postprandiales cuando se compara con la pre-carga de agua en sujetos con DM2.
2. La única diferencia encontrada al separar el grupo de estudio entre consumidores habituales de edulcorantes y no consumidores habituales fue que el área bajo la curva (ABC) de la glicemia con pre-carga de sucralosa de los consumidores habituales de edulcorantes fue menor que el ABC de los no consumidores habituales de edulcorantes, alcanzando significancia estadística, lo que hace reflexionar sobre la posibilidad de replicar este estudio en consumidores no habituales de edulcorantes.
3. La curva incremental de los niveles de GLP-1 y del ABCi de GLP-1 no presento diferencias entre los edulcorantes, ni cuando se comparó con el estándar de pre-carga agua.
4. Si bien no se encontró diferencias en el deseo específico por ciertos alimentos, ya sea dulce, salado o sabroso entre los tratamientos. Si con la pre-carga estevia los sujetos se inclinaron al deseo de consumir algo graso según EVA, y también al comer más lípidos en la comida entregada a voluntad de consumo.
5. En este estudio la mayoría de los sujetos son consumidores habituales de estevia y todos tiene exceso de peso. Y con la pre-carga estevia se observó que consumen más energía a partir de los lípidos e hidratos de carbono respecto el resto de los tratamientos.
6. Al correlacionar el ABC de la glicemia, insulina, y GLP-1 de cada pre-carga, no hubo asociación ni con la EVA, ni con la ingesta de alimentos a voluntad

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Diabetes Programme, Country and regional data. 2009. Disponible en: [http://www.who.int/diabetes/facts/world\\_figures/en/](http://www.who.int/diabetes/facts/world_figures/en/) [Consultado el 14 de marzo de 2015].
2. Encuesta Nacional de Salud (ENS) Chile 2009-2010. Ministerio de Salud (MINSAL). <http://web.minsal.cl/portal/url/item/bcb03d7bc28b64dfe040010165012d23.pdf>. [Consultado el 14 marzo de 2015].
3. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2013; 36 (Suppl 1): S67-S74.
4. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes 2015. *Diabetes Care* 2015; 38: S8-S16.
5. American Diabetes Association. Nutrition Therapy Recommendations for the Management of Adults with Diabetes. *Diabetes Care* 2014; 37 (Suppl 1): S120-43.
6. Position of the American Dietetic Association: Use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *J Am Diet Assoc.* 2004; 104: 255-275. [En línea] Available from <http://fnic.nal.usda.gov/food-composition/nutritive-and-nonnutritive-sweetenerresources>. National Agricultural Library, Food and Nutrition Information Center..
7. Franz MJ, Powers A, Leontos C, Holzmeister LA, Kulkarni K, Monk A et al. The evidence for medical nutrition therapy for type 1 and type 2 diabetes in adults. *J Am Diet Assoc* 2010; 110: 1852-1859.
8. Garnier-Sagne I, Lebland JC, Verger P. Calculation of the intake of three intense sweeteners in young insulin-dependent diabetics. *Food Chem Toxicol* 2001; 7: 745-749.
9. Cullen M, Nolan J, Cullen M, Moloney M, Kearney J, Lambe J et al. Effect of high levels of intense sweetener intake in insulin dependent diabetics on the ratio of dietary sugar to fat: A case-controlled study. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58: 336-341.
10. John V. Baynes - Marek H. Dominiezal. *Bioquímica Médica*; Edición 2, publicado por Elsevier España 2007, páginas 309-310.
11. Anderson G, Woodend D. Effect of glycemic carbohydrates on short-term satiety and food intake. *Nutr Rev* 2003; 61: S17-S26.
12. Mayer J. Regulation of energy and the body weight, the glucostatic theory and the lipostatic hypothesis. *Ann N Y Acad Sci* 1955; 63(1): 15-43.
13. Lionel M. Bernstein and Morton I. Grossman. An experimental test of the glucostatic theory of regulation of food intake. *The Journal of Clinical Investigation* 1956; 35 (6): 627-633.
14. Gardner C, Wylie-Rosett J, Gidding SS, Steffen LM, Johnson RK, Reader D et al. American Heart Association Nutrition Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity and Metabolism, Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the American D. Nonnutritive sweeteners: current use and health perspectives: a scientific statement from the American Heart Association and the American Diabetes Association. *Circulation* 2012; 126(4): 509-19. : s.n.
15. Wiebe N, Padwal R, Field C, Marks S, Jacobs R, Tonelli M. A systematic review on the effect of sweeteners on glycemic response and clinically relevant outcomes. *BMC Med* 2011; 9: 123.

16. Cooper PL, Wahlquist ML, Simpson RW. Sucrose versus saccharin as an added sweetener in non-insulin-dependent diabetes: Shortand medium-term metabolic effects. *Diabetic Med* 1988; 5: 676-680.
17. Mezitis NH, Maggio CA, Koch P, Quddoos A, Allison DB, Pi-Sunyear FX. Glycemic effect of a single high oral dose of the novel sweetener sucralose in patients with diabetes. *Diabetes Care* 1996; 19: 1004-1005.
18. Grotz VL, Henry RR, McGill JB, Prince MJ, Shamooh H, Trout JR et al. Lack of effect of sucralose on glucose homeostasis in subjects with type 2 diabetes. *J Am Diet Assoc* 2003; 103: 1607-1612.
19. Reyna N, Cano C, Bermudez VJ, Medina MT, Souki AJ, Ambard M et al. Sweeteners and beta-glucans improve metabolic and anthropometrics variables in well controlled type 2 diabetic patients. *Am J Therapeutics* 2003; 10: 438-443.
20. Fitch C, Keim KS. Academy of Nutrition and Dietetics. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *J Acad Nutr Diet* 2012; 112(5): 739-58.
21. Durán S, Cordón K, Rodríguez María del Pilar. Edulcorantes no nutritivos, riesgos, apetito y ganancia de peso. *Rev Chil Nutr* 2013; 40 ( 3 ): 309-314.
22. Grotz VL, Munro IC. An overview of the safety of sucralose. *Regul Toxicol Pharmacol* 2009; 55(1): 1-5.
23. M. Toeller. Diet and diabetes. *Diabetes Metab Rev* 1993; 9: 93–108.
24. Submissions to FDA: McNeil Specialty Products Company Food Additive Petition 7A3987 (Sucralose), 1987–1997. Available through Freedom of Information (FOI) and through McNeil Nutritionals, formerly McNeil Specialty Products Company.
25. Pepino MY, Tiemann CD, Patterson BW, Wice BM, Klein S. Sucralose affects glycemic and hormonal responses to an oral glucose load. *Diabetes Care* 2013; 36(9): 2530-5.
26. Fujita Y, Wideman RD, Speck M, Asadi A, King DS, Webber TD et al. Incretin release from gut is acutely enhanced by sugar but not by sweeteners in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296: E473–E479.
27. Stearns AT, Balakrishnan A, Rhoads DB, Tavakkolizadeh A. Rapid upregulation of sodium-glucose transporter SGLT1 in response to intestinal sweet taste stimulation. *Ann Surg* 2010; 251: 865–871.
28. Mace OJ, Affleck J, Patel N, Kellett GL. Sweet taste receptors in rat small intestine stimulate glucose absorption through apical GLUT2. *J Physiol* 2007; 582: 379–392.
29. Margolskee RF, Dyer J, Kokrashvili Z, Salmon KS, Ilegems E, Daly K et al. T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na<sup>+</sup>-glucose cotransporter 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104(38): 15075-80.
30. Moran AW, Al-Rammahi MA, Arora DK, Batchelor DJ, Coulter EA, Daly K et al. Expression of Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter 1 (SGLT1) is enhanced by supplementation of the diet of weaning piglets with artificial sweeteners. *Br J Nutr* 2010; 104: 637–646.
31. Swithers SE, Laboy AF, Clark K, Cooper S, Davidson TL. Experience with the high-intensity sweetener saccharin impairs glucose homeostasis and GLP-1 release in rats. *Behav Brain Res* 2012; 233: 1–14.
32. Jing MA, Bellon M, Wishart J, Young R, Blackshaw A, Jones K et al. Effect of the artificial sweetener, sucralose, on gastric emptying and incretin hormone release in healthy subjects. *Am J of Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296: 735-9.
33. García-Almeida JM, Casado Fdez Gracia M<sup>a</sup>, García Alemán J. Una visión global y actual de los edulcorantes: aspectos de regulación. *Nutr. Hosp* 2013; 28 (4): 17-31 .

34. Gardana C, Simonetti, Canzi E, Zanchi R, Pietta P et al. Metabolism of Stevioside and Rebaudioside A from Stevia Rebaudiana extracts by Human Microflora. *J Ag Food Chem* 2003; 51(2): 6618-6622.
35. European Food Safety Authority, Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food. Scientific opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a food additive. *EFSA Journal*, 8(4):1537. 2010. [3. Biological and toxicological .
36. Lee CN, Wong KL, Liu JC, Chen YJ, Cheng JT, Chan P. Inhibitory effect of stevioside on calcium influx to produce anti-hypertension. *Planta Med* 2001; 67: 796–9.
37. Chang JC, Wu MC, Liu IM, Cheng JT. Increase of insulin sensitivity by stevioside in fructose-rich chow-fed rats. *Hormone and Metabolic Research* 2005; 37: 610–616.
38. Curi R, Alvarez M, Bazotte RB, Botion LM, Godoy JL, Bracht A. Effect of Stevia rebaudiana on glucose tolerance in normal adult humans. *Braz J Med Biol Res* 1986; 19(6): 771-4.
39. Gregersen S, Jeppesen PB, Holst JJ, Hermansen K. Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism* 2004; 53: 73–76.
40. Jeppesen PB, Gregersen S, Alstrup KK, Hermansen K. Stevioside induces antihyperglycaemic, insulinotropic and glucagonostatic effects in vivo: Studies in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Phytomedicine* 2002; 9: 9-14.
41. Jeppesen PB, Gregersen S, Rolfsen SE, Jepsen M, Colombo M, Agger A et al. Antihyperglycemic and blood pressure-reducing effects of stevioside in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rat. *Metabolism* 2003; 52: 372-378.
42. Jeppesen PB, Gregersen S, Poulsen CR, Hermansen K. Stevioside acts directly on pancreatic beta cells to secrete insulin:actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitiveK<sup>+</sup>-channel activity.*Metabolism* 2000;49(2):20 .
43. Usami M, Seino Y, Takai J, Nakahara H, Seino S, Ikeda M et al. Effect of cyclamate sodium, saccharin sodium and stevioside on arginine-induced insulin and glucagón secretion in the isolated perfused rat pancreas. *Horm Metab Res* 1980; 12: 705-706.
44. Anton SD, Martin CK, Han H, Coulon S, Cefalu WT, Geisselman P et al. Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite* 2010; 55: 37-43.
45. Apparent lack of pharmacological effect of steviol glycosides used as a sweeteners in humans. A pilot study of repeated exposures in some normotensive individuals with type 1 and type 2 diabetics. *Regul Toxicol Pharmacol* 2008; 51: 37-41. Barriocanal LA, Palacios M, Benitez G, Benitez S, Jimenez JT, Jimenez N et al.
46. Maki KC, Curry LL, Reeves MS, Toth PD, McKenney JM, Farmer MV. Chronic consumption of rebaudioside A, a steviol glycoside, in men and women with type 2 diabetes mellitus. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(7): S47-S53.
47. Jeppesen PB, Barriocanal L, Meyer MT, Palacios M, Canete F, Benitez S et al. Efficacy and tolerability of oral stevioside in patients with type 2 diabetes: a long-term randomized,double-blinded,placebo-controlled study. *Diabetologia* 2006; 49 (1): 511–512.
48. Kellett GL, Brot-Laroche E, Mace OJ, Leturque A. Sugar absorption in the intestine: the role of GLUT2. *Annu Rev Nutr* 2008; 28: 35-54.
49. Mace OJ, Affleck J, Patel N, Kellett GL. Sweet taste receptors in rat small intestine stimulate glucose absorption through apical GLUT2. *J. Physiol* 2007; 582: 379–92.
50. Shirazi-Beechey SP, Daly K, Al-Rammahi M, Moran AW, Bravo D. Role of nutrient-sensing taste 1 receptor (T1R) family members in gastrointestinal chemosensing. *Br J Nutr* 2014; 111 (1): S8-15.

51. Fujimaru T, Park JH, Lim J. Sensory characteristics and relative sweetness of tagatose and other sweeteners. *J Food Sci* 2012; 77(9): S323-8.
52. Shuster LT, Go VLW, Rizza RA, O'Brien PC, Service FJ. Incretin effect due to increased secretion and decreased clearance of insulin in normal humans. *Diabetes* 1988; 37 : 200 –203.
53. Nauck M, Stockmann F, Ebert R, Creutzfeldt W. Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1986; 29(1): 46 –52.
54. Tobin V, Le Gall M, FioramonTobin V, Le Gall M, Fioramonti X, Stolarczyk E, Blazquez AG, Klein C et al. Insulin internalizes GLUT2 in the enterocytes of healthy but not insulin-resistant mice. *Diabetes* 2008; 57:555–62.
55. Vollmer K, Holst JJ, Baller B, Ellrichmann M, Nauck MA, Schmidt WE et al. Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Diabetes* 2008;57(3):678-87. .
56. Gutzwiller JP, Göke B, Drewe J, Hildebrand P, Ketterer S, Handschin D et al. Glucagon-like peptide-1: a potent regulator of food intake in humans. *Gut* 1999; 44(1): 81–86.
57. McIntyre N, Holdsworth CD, Turner DS. New Interpretation of Oral Glucose Tolerance. *Lancet* 1964; 2: 20–21.
58. Torrealba F. Mecanismos de control de la ingesta de alimentos. En: Brunser O, Cruchet S, Gotteland M, Editores, Fisiología gastrointestinal y nutrición. Santiago, Chile: Editorial Nestlé Chile S.A.; 2013. p. 259-66.
59. Fehse F, Trautmann M, Holst JJ, Halseth AE, Nanayakkara N, Nielsen LL et al. Exenatide augments first- and second-phase insulin secretion in response to intravenous glucose in subjects with type 2 diabetes. *J Clin EndocrinolMetab* 2005; 90 (11): 5991–7.
60. Yukihiro F, Rhonda D, Speck M, Asadi A, King D, Webber T et al. Incretin release from gut is acutely enhanced by sugar but not by sweetener in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296: 473-9.
61. Jang HJ, Kokrashvili Z, Theodorakis MJ, Carlson OD, Kim BJ, Zhou J et al. Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 15069–74.
62. Brown RJ, Walter M, Rother KI. Ingestion of diet soda before a glucose load augments GLP-1 secretion. *Diabetes Care* 2009; 32: 2184–86.
63. Reimann F, Habib AM, Tolhurst G, Parker HE, Rogers GJ, Gribble FM. Glucose sensing in L cells: a primary cell study. *Cell Metab* 2008; 8: 532–539.
64. Ford HE, Peters V, Martin NM, Sleeth ML, Ghatei MA, Frost GS et al. Effects of oral ingestion of sucralose on gut hormone response and appetite in healthy normal-weight subjects. *Eur J Clin Nutr* 2011; 65(4): 508-13.
65. Swithers SE, Martin AA, Davidson TL. High-intensity sweeteners and energy balance. *Physiol Behav* 2010; 100 (1): 55-62. .
66. Rodearmel SJ, Wyatt HR, Stroebele N, Smith SM, Ogden LG, Hill JO. Small changes in dietary sugar and physical activity as an approach to preventing excessive weight gain: the America On the Move family study. *Pediatrics* 2007;120: 869–79.
67. Geiselman PJ, Anderson AM, Dowdy ML, West DB, Redmann SB, Smith SR. Reliability and validity of a macronutrient self-selection paradigm and a food preference questionnaire. *Physiology & Behavior* 1988; 63: 919–928.
68. Flint A , Raben A, Blundell JE, Astrup A. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24(1): 38-48.

69. Carrasco F, Rojas P, Ruz M, Rebolledo A, Codoceo J, Inostroza J et al. Gasto energético y composición corporal en mujeres con obesidad severa y mórbida sometidas a bypass gástrico. *Rev Méd Chile* 2008; 136:570-577.
70. FAO/WHO. 1998. Carbohydrates in human nutrition report of a joint FAO/WHO expert consultation. Rome : FAO.
71. Henquin JC. Do pancreatic  $\beta$  cells "taste" nutrients to secrete insulin? *Sci Signal*. 2012 Aug; 5 (239): 36.
72. Ma J, Chang J, Checklin H, Young R, Jones K, Horowitz M, Rayner C. Effect of the artificial sweetener, sucralose, on small intestinal glucose absorption in healthy human subjects. *Br J Nutr*. 2010 Sep; 104 (6): 803-6.
73. Brown R, Rother K. Non-Nutritive Sweeteners and their Role in the Gastrointestinal Tract. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Jun; 97 (8): 2597–2605.
74. Young RL, Sutherland K, Pezos N, Brierley SM, Horowitz M, Rayner CK et al. Expression of taste molecules in the upper gastrointestinal tract in humans with and without type 2 diabetes. *Gut* 2009;58(3):337-46.
75. Temizkan S, Deyneli O, Yasar M, Arpa M, Gunes M, et al. Sucralose enhances GLP-1 release and lowers blood glucose in the presence of carbohydrate in healthy subjects but not in patients with type 2 diabetes. *Eur J Clin Nutr*. 2015 Feb; 69 (2): 162-6.
76. Toft-Nielsen MB, Damholt MB, Madsbad S et al. Determinants of impaired secretion of glucagon-like peptide-1 in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3717-3723.
77. Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon – like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase – 4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet* 2006; 368: 1969-705.
78. Wu T, Zhao B, Bound M, Checklin H, Bellon M, Little T et al. Effects of different sweet preloads on incretin hormone secretion, gastric emptying, and postprandial glycemia in healthy humans. *Am J Clin Nutr*. 2012 Jan; 95 (1): 78-83. .
79. Brown R, Walter M, Rother K. Effects of Diet Soda on Gut Hormones in Youths With Diabetes. *Diabetes Care*. 2012 Apr; 35(5): 959–964.
80. Carreiro AL, Dhillon J, Gordon S, Higgins KA, Jacobs AG, McArthur BM et al. The Macronutrients, Appetite, and Energy Intake. *Annu Rev Nutr* 2016;36:73-103. .
81. de Araujo IE, Oliveira-Maia AJ, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Caron MG, Nicolelis MA et al. Food reward in the absence of taste receptor signaling. *Neuron* 2008;57(6):930-41. .

## 10.ANEXOS

### Anexo 1

### PROYECTO DE TESIS EN DIABETES

Nombre Paciente: .....	Fecha: .....	
.....		
RUT: .....	Dirección <sub>(calle, nº, comuna)</sub> : .....	
.....		
Fecha de nacimiento: .....	Edad: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fono Casa: .....
.....		

Celular: ..... Fono Familiares: ..... E-mail: .....

Consultorio: ..... Dirección<sub>(calle, nº, comuna)</sub>: .....

<b>Diabetes:</b> Fecha diagnóstico: _____ Motivo diagnóstico: _____ Tto fco actual <sub>(nombre, dosis)</sub> : _____ Adherencia tto: _____
<b>HTA:</b> Fecha diagnóstico: _____ Tto fco actual <sub>(nombre, dosis)</sub> : _____ Adherencia tto: _____
<b>Dislipidemia:</b> Fecha diagnóstico: _____ Tto fco actual <sub>(nombre, dosis)</sub> : _____ Adherencia a tratamiento actual: _____
Otros antecedentes mórbidos <sub>(diabetes gestacional, macrosomía, IAM, ECV, con fecha)</sub> : _____ _____
Otros fármacos: _____
Cirugías <sub>(fecha)</sub> : _____
Tabaco(cigarrillos/día, duración): _____ OH <sub>(tipo, cantidad, fcia)</sub> : _____
Actividad física <sub>(tipo, intensidad, minutos/semana)</sub> : _____
MAC: _____ FUR: _____ E P A
Antecedentes familiares (diabetes, IAM, ECV, HTA, dislipidemia, edad dg): _____

<b>Examen físico</b>						
Peso:	Talla:	IMC:	Cintura:	Acantosis:	Si	No
<b>Diagnóstico nutricional integrado:</b>						
Acrocordon:	Si	No	PA Acostado:	PA Sentado:		
Pulso:	Regular	Irregular	Soplo Carotídeo:	Si	No	
<b>Exámenes:</b> Glicemia:		HbA1c:				
C-total:	C-LDL:	C-HDL:	TAG:			
Creatinina:	VFG:	Microalbuminuria:				
Otros:						
<b>Anamnesis Alimentaria</b>						
Alergias y/o intolerancias alimentarias:						
<b>Encuesta de recordatorio 24 horas o ingesta habitual</b>						
Horario/tiempo de comida	Preparación	Ingredientes	E (kcal)	CH O (g)	P (g)	L (g)
<b>Encuesta de frecuencia de consumo modificada [nutrientes críticos de acuerdo a patología (as)]</b>						
Alimento	Frecuencia	Cantidad (g/ml)	Nutriente			
Tipo de Endulzante						

<b>Criterios</b>	<b>Inclusión</b>	<b>SI</b>	<b>NO</b>	<b>SI -CUMPLE</b>
<b>Tratamiento para la diabetes</b>	Metformina			
	Dieta			
<b>Diagnóstico de la diabetes tipo 2</b>	Hace más de 1 año y menos de 10 años			
<b>Hemoglobina glicosilada (HbA1c)</b>	Menos de < 9%			
<b>Edad (años)</b>	Entre 30-55 años			
<b>Índice de masa corporal (IMC)</b>	IMC $\geq 25$ kg/m <sup>2</sup> y < 39,9 kg/m <sup>2</sup>			
	<b>Exclusión</b>			<b>NO - CUMPLE</b>
<b>Tratamiento con otro medicamento para la diabetes</b>	Sulfonilureas (Glibenclamida), Inhibidores DPP-4 (gliptinas), análogos de GLP-1, tiazolidinedonas, Glinidas, sustitución de la insulina, Inhibidores de la alfa glucosidasa			
<b>Suplemento dietético (que interfiera en: apetito, saciedad, respuesta glicémica-insulinémica)</b>	Zinc, magnesio, cobre, antioxidantes (polifenoles; antocianina, Cianidina 3-glucósido compuestos fenólicos)			
<b>Antecedentes de abuso</b>	De alcohol y drogas			
<b>Aversión o alergia a siguientes alimentos:</b>	Estevia			
	Sucralosa			
	Pan molde integral			
	Pan blanco "perfecto"			
	Quesillo light			
	Tomate			
	Palta			
	Atún al agua			
	Jamón de pavo cocido			
	Mermelada sin azúcar			
	Yogurt light			
	Jalea light			
	Jugo light			
	Manzana			
	Pera			
	Naranja			
	Maní sin sal			
	Almendras			
Nueces				

<b>Antecedentes de:</b>	Trastornos alimentarios			
	Cirugía gastrointestinal de tipo: cirugía bariátrica, gastrectomía, Whipple o resecciones intestinales			
	Enfermedad aguda, cardiovascular significativa, psicológica, neurológica, renal,			

## Anexo 2



UNIVERSIDAD DE CHILE

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Proyecto: “**Análisis comparativo de apetito-saciedad, respuesta glicémica y hormonal incretínica tras la ingesta de edulcorantes no nutritivos en sujetos diabéticos tipo 2 (DM2)**”

**Investigadora Responsable:** Verónica Sombra Vásquez.

**Autoridad de la Institución donde se realizará el estudio:** Dr. Francisco Perez (Director de Departamento de Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad de Chile).

**Invitación a participar:** Estimado (a), le invitamos a participar en este estudio que compara la ingesta de dos endulzantes en personas diabéticas tipo 2.

Para que usted pueda tomar una decisión informada, le explicaremos cuáles serán los procedimientos involucrados en el desarrollo de este estudio, así como en qué consistiría su colaboración:

**Objetivo:** Este estudio quiere comparar los efectos del consumo de dos endulzantes de uso habitual, previo a ingerir alimentos, sobre el apetito, glicemia, insulinemia y de GLP-1 que es una molécula relacionada con la saciedad.

**Procedimientos:** Si usted acepta participar se le harán evaluaciones en ayuno y después de consumir un desayuno. Estas evaluaciones se realizarán tres veces, en tres días distintos, en el Departamento de Nutrición (Facultad de Medicina, Universidad de Chile), cada día separado por al menos siete días. Deberá mantener su dieta normal entre jornadas del estudio, no realizar ejercicio vigoroso y no consumir alcohol durante las 24 horas previas al estudio. A su cuidado siempre habrá al menos una persona de nuestro equipo de trabajo.

Las evaluaciones que se realizarán en cada citación consisten en: medición de peso y estatura. Además toma de una muestra de sangre, después de la cual deberá tomar ¼ de taza de agua con endulzante. A los 10 minutos, tomará una taza de té con tres cucharaditas de azúcar y una marraqueta. Desde el inicio y luego cada 30 minutos se le aplicará un cuestionario, para evaluar su sensación de apetito, y se le tomarán otras siete

muestras de sangre, durante un periodo de 3 horas. En total, se le extraerá el equivalente a 1 taza de sangre en todo el estudio.

Al final de las tres horas, a usted se le pedirá que coma lo que desee de una variedad de alimentos que tendrá a su disposición.

Para llevar a cabo estas mediciones, usted deberá asistir 3 días distintos.

**Riesgos:** El riesgo está relacionado con la molestia que pueda ocasionar el pinchazo para obtener las muestras de sangre. En el sitio del pinchazo pudiera aparecer en algún caso un moretón, lo que se tratará de evitar haciendo que quien le tome la muestra sea un Tecnólogo Médico con mucha experiencia en tomar muestras de sangre.

**Costos:** Todos los exámenes, alimentos y servicios que le brindemos serán costeados por el presupuesto del estudio, sin costo alguno para usted durante el desarrollo del estudio.

**Beneficios:** Al final del estudio, se le dará a conocer cómo se comporta su organismo frente al consumo de endulzantes y alimentos. Con esta información se podrán crear estrategias para prevenir el exceso de peso y mejorar el control glicémico en la diabetes tipo 2.

**Compensación:** Recibirá 20.000 (veinte mil pesos chilenos) cada vez que concurra al estudio, para retribuir por cada día no trabajado, traslados y otros gastos en los cuales incurra a razón de este estudio (sesenta mil pesos en total).

**Confidencialidad:** Toda la información que se origine de su participación en este estudio será guardada en forma estrictamente confidencial, sólo los investigadores o agencias supervisoras del estudio tendrán acceso a ella. Sus datos serán identificados por medio de un código, de manera que toda la información recopilada será confidencial y completamente anónima.

**Información adicional:** Usted o el doctor que trata su diabetes serán oportunamente informados si durante el estudio aparecen nuevos conocimientos o complicaciones que no le permitan seguir en este estudio aunque quiera.

**Voluntariedad:** Su participación en este estudio es totalmente voluntaria, puede escoger usted mismo ser o no ser parte, de modo que si se niega a participar seguirá recibiendo la misma atención que hasta ahora. Y una vez que ya es parte del estudio, también puede retirarse en cualquier momento que estime conveniente, sin problemas ni sanciones. De igual manera su doctor tratante de la diabetes o el investigador de este estudio podrán solicitar su retiro si consideran que esa decisión va en su beneficio.

**Complicaciones:** En el poco probable caso de que usted presente alguna complicación generada directamente por el estudio ya sea por el consumo de endulzantes o de

alimentos. Recibirá el tratamiento médico completo de dicha complicación, financiado por los investigadores, y sin costo alguno para usted o su sistema previsional. Esto no incluye las complicaciones propias de su enfermedad y de su curso natural.

**Derechos del participante:** Usted recibirá una copia íntegra y escrita de este documento firmado. Si usted requiere cualquier otra información sobre su participación en este estudio puede comunicarse con:

Investigadora: Verónica Samba Vásquez, teléfono 64072287.

Autoridad de la Institución: Dr. Francisco Perez, teléfono 229786136.

**Otros Derechos del participante:** En caso de duda sobre sus derechos debe comunicarse con el Presidente del "Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos", Dr. Manuel Oyarzún G., Teléfono: 2-978.9536, Email: [comiteceish@med.uchile.cl](mailto:comiteceish@med.uchile.cl), cuya oficina se encuentra ubicada a un costado de la Biblioteca Central de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile en Av. Independencia 1027, Comuna de Independencia.

**Conclusión:** Después de haber recibido y comprendido la información de este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, otorgo mi consentimiento para participar en este estudio.

\_\_\_\_\_  
Nombre del sujeto  
Rut.

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre de informante  
Rut.

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre del investigador  
Rut.

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

### Anexo 3



Estudio SUE, Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

**Nombre voluntario:** ..... **Fecha:** ..... **ID: SUE-**

\_\_\_\_\_ Recepción del sujeto y constatar ayuno de 8 horas, ausencia de medicación y otros como: alcohol, ejercicio físico vigoroso, etc. Si no cumple con indicaciones: **recalendarizar visita.**

\_\_\_\_\_ Realizar hemoglucotest; glicemia <140 mg/dl

\_\_\_\_\_ Realizar EVA de 100 mm

\_\_\_\_\_ Instalación vía venosa para extracción de sangre.

\_\_\_\_\_ Toma de muestras de sangre.

Tiempo	Hora de toma de muestra	Tubos de recolección de muestra	Observaciones	Identificación examinador
- 10 min		Rojo (4 ml) Lila + DPP-IV 20µl (2 ml)		
Posterior a toma de muestra _____ Dar a beber solución de 60 ml de agua: pura / sucralosa/ estevia → (60 ml de agua o 60 ml de agua con 48 mg de sucralosa o un volumen equivalente con 96 mg de estevia (glucósidos de esteviol), que deberán consumir en 2 minutos) _____ Realizar Encuesta de “sensación” de sabor al beber solución.				
Basal-0 min		Rojo (4 ml) Lila + DPP-IV (2 ml)		

_____ Dar a consumir una comida mixta de prueba: una taza de té con tres cucharaditas de azúcar + un pan marraqueta de 100 g. Que deberán consumir en menos de 10 minutos.				
00:30 min		Rojo (4 ml) Lila + DPP-IV (2 ml)		
_____ Realizar EVA de 100 mm				
00:60 min		Rojo (4 ml) Lila + DPP-IV (2 ml)		
_____ Realizar EVA de 100 mm				
00:90 min		Rojo (4 ml) Lila + DPP-IV (2 ml)		
_____ Realizar EVA de 100 mm				
00:120 min		Rojo (4 ml)		
_____ Realizar EVA de 100 mm				
00:150 min		Rojo (4 ml)		
_____ Realizar EVA de 100 mm				
00:180 min		Rojo (4 ml) Lila + DPP-IV (2 ml)		
_____ Realizar EVA de 100 mm				

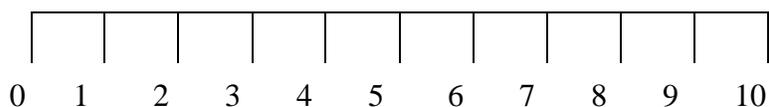
\_\_\_\_\_ 00:190 min. Oferta de alimentos *ad libitum* ( según protocolo )

\_\_\_\_\_ Realizar hemoglucotest; glicemia <140 mg/dl

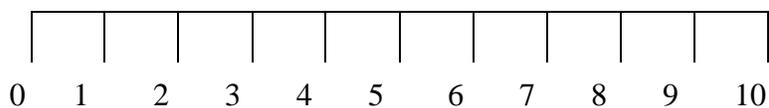
#### Anexo 4

**¿Qué sabor sintió o “sensación” le produjo el beber esta preparación?. Marque la o las alternativas que lo identifiquen:**

- a) Sabor dulce. En una escala del 0 al 10, marque con un círculo su grado de dulzor



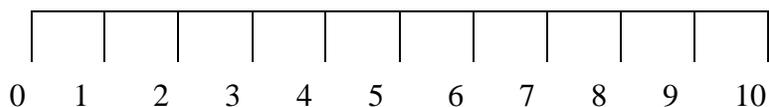
- b) Sabor amargo. En una escala del 0 al 10, marque con un círculo su grado de amargura



- c) Sabor metálico. En una escala del 0 al 10, marque con un círculo su grado de sabor metálico



- d) Otro sabor. ¿Cuál?\_\_\_\_\_.En una escala del 0 al 10, marque con un círculo su grado.



## Anexo 5

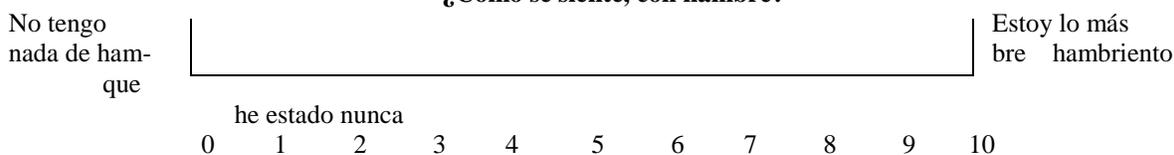
*Preguntas sobre el apetito y el deseo de tipos específicos de alimentos.*

*Escala visual análoga EVA de 10 cm.*

**Tiempo: \_\_ minutos**

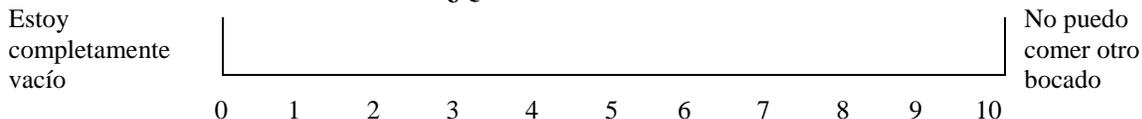
**Marque con una línea vertical su grado de hambre en la siguiente escala**

**¿Cómo se siente, con hambre?**



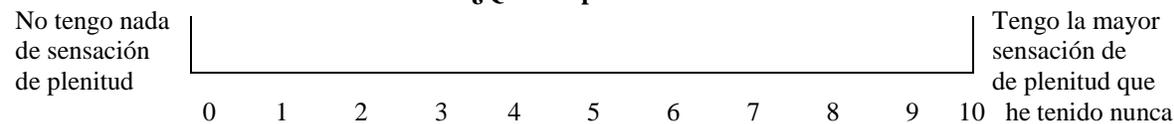
**Marque con una línea vertical su grado de saciedad en la siguiente escala**

**¿Qué tan satisfecho se siente?**



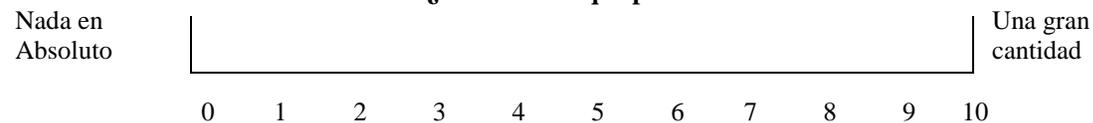
**Marque con una línea vertical su grado de plenitud en la siguiente escala**

**¿Qué tan pleno se siente?**



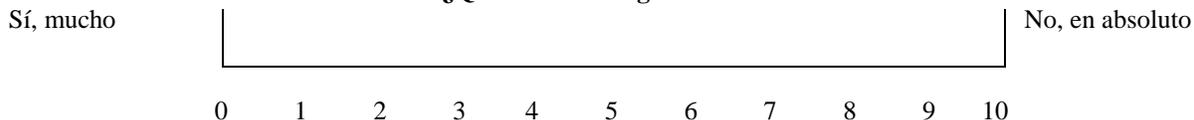
**Marque con una línea vertical su grado de deseo de ingerir algún alimento en la siguiente escala**

**¿Cuánto cree que puedes comer?**



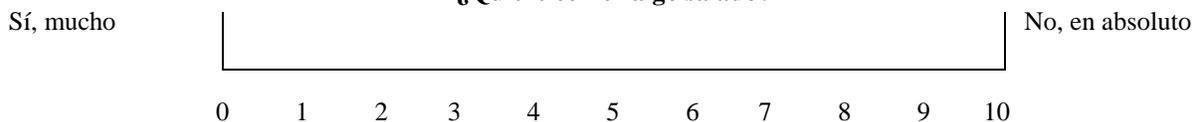
**Marque con una línea vertical su grado de deseo de ingerir algo dulce en la siguiente escala**

**¿Quiere comer algo dulce?**



**Marque con una línea vertical su grado de deseo de ingerir algo salado en la siguiente escala**

**¿Quiere comer algo salado?**



**Marque con una línea vertical su grado de deseo de ingerir algo sabroso en la siguiente escala. ¿Quiere comer algo sabroso?**

Sí, mucho

No, en absoluto

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Detailed description: A horizontal scale from 0 to 10. A vertical line is drawn at the 10 mark, indicating a score of 10. The scale is labeled 'Sí, mucho' at 0 and 'No, en absoluto' at 10.

**Marque con una línea vertical su grado de deseo de ingerir algo graso en la siguiente escala. ¿Quiere comer algo graso?**

Sí, mucho

No, en absoluto

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Detailed description: A horizontal scale from 0 to 10. A vertical line is drawn at the 10 mark, indicating a score of 10. The scale is labeled 'Sí, mucho' at 0 and 'No, en absoluto' at 10.