

I INFORME CIENTÍFICO

La Stevia y su papel en la salud

Dra. Viviana Loria Kohen



Informe Científico elaborado en colaboración con:

truvía
El endulzante 0 calorías de la hoja de Stevia

I INFORME CIENTÍFICO

La Stevia y su papel en la salud

Dra. Viviana Loria Kohen

Índice

1. Introducción	7
2. Edulcorantes y endulzantes	8
2.1 Definición	8
2.2 Clasificación	9
3. Historia de la Stevia y su incorporación en los diferentes mercados	11
4. Estructura y metabolismo de la Stevia	12
4.1 Sus componentes	12
4.2 Absorción	14
4.3 Metabolismo y excreción	14
4.4 Influencia sobre la biodisponibilidad de otros nutrientes de la dieta	16
5. Características de su dulzor y efectos sobre la palatabilidad y estabilidad	16
5.1 Poder endulzante	16
5.2 Perfil del sabor	16
5.3 Perfil del sabor en el tiempo	17
5.4 Estabilidad	18
6. Efectos biológicos y potenciales aplicaciones terapéuticas de la Stevia	18
6.1 El ahorro energético y su importancia en el tratamiento de la Obesidad	18
6.1.1 Datos de prevalencia de Obesidad en España y en el mundo	18
6.1.2 Complicaciones de esta enfermedad	19
6.1.3 Dieta y ejercicio: pilares del tratamiento de esta enfermedad	20
6.1.4 El papel de la Stevia en las dietas para el control del peso	21
6.2 Efecto antihiper glucémico	22
6.2.1 Datos de prevalencia de Diabetes en España y en el mundo	22
6.2.2 Efecto de la Stevia sobre el metabolismo de la glucosa	23
6.3 Efecto antihipertensivo	26
6.4 Efecto antidiarreico	27
6.5 Efecto anti-inflamatorio y anticancerígeno	27
6.6 Efecto anticariogénico	28
6.7 Efecto antioxidante	28

7. Estudios sobre su seguridad	29
71 Toxicidad oral aguda	29
72 Toxicidad a corto plazo y subcrónica	29
73 Estudios de genotoxicidad	30
74 Toxicidad crónica y carcinogénesis	30
75 Estudios de fertilidad y teratogeneidad	30
8. Ingesta diaria admitida (IDA)	31
9. Anexos	33
ANEXO I: Resumen de estudios revisados sobre el efecto antihipertensivo y cardiovascular de la Stevia	33
ANEXO 2: Resumen de estudios revisados sobre la actividad anti-inflamatoria y antitumoral de la Stevia	36
ANEXO 3: Estudios sobre toxicidad a corto plazo y subcrónica de la Stevia	37
10. Puntos clave	38
11. Bibliografía	40

1. Introducción

Múltiples estudios relacionan la dieta y las enfermedades crónicas como las cardiovasculares, obesidad, diabetes mellitus y algunos tipos de cáncer y han puesto de manifiesto que dieta y salud caminan juntas. Además, a diferencia de otros factores como los genéticos, en el caso de la dieta tenemos la posibilidad de modificarla como una medida preventiva o para retrasar los efectos de la enfermedad o, simplemente tratarla.

Para que la dieta sea adecuada y saludable debe aportar la energía y todos los nutrientes esenciales y no esenciales. Tendrá que ser suficiente, es decir que suministre la cantidad de calorías y nutrientes necesarios para mantener el equilibrio de su balance; ser completa, estando compuesta por una gran variedad de alimentos de todos los grupos (aquella dieta en que falta algún nutriente o se halla considerablemente reducido, será carente); ser armónica, ya que las cantidades de los diversos principios nutritivos que integran la alimentación deben guardar una relación de proporción entre sí, y finalmente, ser adecuada y adaptarse a las condiciones de quien la consume: edad, sexo, situación biológica, gustos, hábitos, cultura, religión, etc.

Alimentarse correctamente es una preocupación cada día más extendida, dejando de ser un tema sólo para estudiosos, científicos y medios de comunicación. Muchas personas vienen demostrando su interés en seguir una alimentación equilibrada,

basada en productos naturales, no tanto como una forma para recuperar una salud quebrantada sino más bien como un medio natural y sencillo de alcanzar el bienestar personal.

Comer correctamente es un recurso esencial para mejorar nuestro rendimiento físico e intelectual, para mantener un adecuado estado de ánimo, prevenir la aparición de enfermedades y, en definitiva, para aumentar nuestra calidad de vida.

No existen alimentos buenos y malos; todos ellos están concebidos para formar parte de una dieta equilibrada mientras se consumen con moderación. Comer es uno de los grandes placeres de la vida y es importante que la alimentación además de equilibrada y variada, sea agradable y que tenga una calidad sensorial que la haga apetecible.

En aquellos casos en que es necesario realizar una modificación dietética para prevenir o tratar una enfermedad, el desafío para los profesionales de la salud y la nutrición es aún mayor. Además de aconsejar la mejor calidad nutricional resulta fundamental que ese consejo mantenga el derecho a alcanzar la gratificación y el placer al comer.

2. Edulcorantes y endulzantes

2.1 Definición

Recibe el nombre de edulcorante toda sustancia química capaz de proporcionar sabor dulce al alimento que la contiene.

2.2 Clasificación

Las moléculas dotadas de poder edulcorante son muy numerosas. La clasificación que se utiliza habitualmente es la siguiente:

- **Edulcorantes naturales**
 - Monosacáridos: glucosa, fructosa, galactosa.
 - Disacáridos: sacarosa, lactosa, maltosa.
- **Edulcorantes nutritivos, derivados de productos naturales**
 - Productos que provienen del almidón: glucosa, jarabe de glucosa, isoglucosa.
 - Productos que provienen de la sacarosa: azúcar invertido.
 - Azúcares-alcoholes o polioles: sorbitol, manitol, xilitol, isumalto, maltitol, lactitol, jarabe de glucosa hidrogenado.
 - Neoazúcares: fructo-oligosacáridos.
- **Edulcorantes intensos**
 - Edulcorantes químicos (edulcorantes de síntesis o edulcorantes artificiales): aspartamo, acesulfamo, sacarina, ciclamato, alitamo, dulcina.
 - Edulcorantes intensos de origen vegetal y natural: taumatina, Stevia, monelina, dihidrocalcona, glicirrizina.

De los azúcares existentes en la naturaleza sólo algunos se utilizan a gran escala como edulcorantes. Además de la sacarosa (azúcar de caña o remolacha), tienen importancia la glucosa (azúcar de almidón y jarabe de almidón), el azúcar invertido (mezcla equimolecular de glucosa y fructosa), la maltosa, la lactosa y la fructosa.

Con fines dietéticos o para elaborar determinados preparados industriales, se emplean además, otros azúcares o azúcares-alcohol, como por ejemplo: sorbitol, xilitol, manitol, maltulosa, isomaltulosa, maltitol, isomaltitol, lactulosa y lactitol.

La Tabla 1 resume los edulcorantes cuyo uso está autorizado en la UE; junto al número de identificación se indica su poder edulcorante (PE) y se proporcionan datos sobre sus principales características y estabilidad.

El principal inconveniente de los edulcorantes artificiales es que presentan un perfil de sabor distinto al del azúcar y no desempeñan las funciones de ésta en lo que concierne al cuerpo y la textura.

Los endulzantes de origen natural y vegetal tienen un poder edulcorante inclusive superior al de los edulcorantes sintéticos y además, tienen un sabor sorprendente. Tanto las hojas secas como el extracto de la Stevia se han ido empleando como sustitutos del ciclamato, la sacarina y otros edulcorantes artificiales por todas aquellas personas que querían o necesitaban un

edulcorante que no aportase calorías y fuese natural. Poco a poco y a través de una amplia investigación científica se han ido seleccionando los componentes más dulces y de mayor calidad de las hojas de la Stevia, mejorando su calidad y transformándose en la mejor opción natural y sin calorías. Hasta tal punto que grandes productoras de alimentos se interesan y han ido incorporándolas entre sus ingredientes habituales.

Éste sería el caso del endulzante 0 calorías proveniente de la hoja de Stevia, Truvia®.

Se trata, además, de un endulzante con un sabor limpio y agradable, y esto se debe a que, a diferencia de la Stevia empleada en los suplementos dietéticos, que habitualmente es una mezcla de muchos componentes de la hoja de la Stevia, Truvia® se elabora únicamente con la parte con mejor sabor (con no menos de 95% de rebaudiósido A), resultando ser un endulzante de gran pureza y de calidad constante.

Tabla 1: Edulcorantes cuyo uso está autorizado en la Unión Europea y algunas características de interés. Modificado de Farré-Rovira et al., 2010 y Matsukubo et al., 2006.

Edulcorante	Características
Acesulfamo potásico E-950	PE 130 a 200 Estable a temperaturas elevadas Mantiene sus propiedades sensoriales en un amplio intervalo de pH No deja regusto desagradable
Aspartamo E-951	PE 100 a 200 No deja regusto amargo. Baja estabilidad frente al calor y a pH inferior a 2,5 y superior a 5,5 Inestable en bebidas carbonatadas
Ácido ciclámico y sus sales de sodio y calcio E-952	PE 80 No deja regusto amargo Estable a la luz y al calor en un amplio intervalo de valores de pH
Isomalt E-953 Mezcla de glucosa-sorbitol y glucosa- maltitol	PPE 80 Valor energético 2 kcal/g Útil para diabéticos
Sacarina y sales de sodio, potasio y calcio E-954	PE 300 a 400 Resistente al calor y a la acidez Regusto amargo
Sucralosa E-955	PE 600 Estable a temperaturas elevadas Perfil de sabor similar al del azúcar
Taumatina E-957	PE 1400 a 2200. Estable al calor y al pH
Neohesperidina DC E-959	PE 250 a 1800 Estable al calor y en disolución acuosa con pH entre 1 y 7 Actúa más como potenciador del sabor que como edulcorante
Sal de aspartamo y acesulfamo E-962	Ofrece ventajas tecnológicas frente a la mezcla de aspartamo y acesulfamo sin plantear problemas adicionales de seguridad
E-965 Maltitol Jarabe de maltitol	La dulzura de maltitol es 75-80% de la sacarosa y su calidad de sabor es semejante a esta. Azúcar-alcohol sintético, que se obtiene a partir de la maltosa, procedente del almidón

Edulcorante	Características
E-966 Lactitol	Azúcar alcohol obtenido a partir de la lactosa Ingestas superiores a 25 g pueden tener efectos laxantes
E-967 Xilitol	Azúcar alcohol natural presente en muchos vegetales. Comercialmente se obtiene a partir del polisacárido xilan de la pulpa de la madera. Aunque la dulzura de xilitol es similar a la de la sacarosa, el sabor dulce aparece y desaparece más rápidamente
E-968 Eritriol	PE 70 a 80 % del de la sacarosa Además de edulcorante es potenciador del sabor, soporte, humectante, estabilizador, espesante, agente de carga y secuestrante Tiene la capacidad de enmascarar sabores amargos de un modo similar a la sacarosa A diferencia de otros azúcares alcoholes no produce efectos adversos intestinales. Más del 90 % se excreta por orina sin ser metabolizado
Stevia	PE entre 150-300 Endulzante natural extraído de las hojas de la Stevia rebaudiana Bertoni. No se absorbe y es utilizada por las enterobacterias Su valor energético es 0 kcal / g. No cariogénica Mantiene la homeostasis de la glucosa.
PE: poder edulcorante en una dilución de sacarosa de 30 g/l a 20 ° C	

3. Historia de la Stevia y su incorporación en los diferentes mercados

Durante siglos, los pueblos indígenas guaraníes de Paraguay usaron las hojas de la Stevia como edulcorante natural para el mate y otras infusiones (Carakostas *et al.*, 2008). Tradicionalmente, secaban las hojas y las usaban para endulzar, las masticaban para percibir su sabor dulce o las empleaban en la medicina tradicional.

En el actual idioma guaraní se conoce como *ka'a he'ẽ*, palabra compuesta por las palabras *ka'a* o *caá*: hierba y *he'ẽ* o *jé*: dulce. De ahí que sea conocida como "la hierba dulce del Paraguayo" (Brahmachari *et al.*, 2011).

El naturalista suizo Moisés Bertoni fue el primero en describir la especie que crecía en el Alto Paraná. Posteriormente, el químico paraguayo Ovidio Rebaudi publicó en 1900 el primer análisis químico que se había hecho de ella. La especie fue bautizada oficialmente por Bertoni en su honor como *Eupatorium rebaudiana*, o *Stevia rebaudiana*.

Ovidio Rebaudi consiguió aislar los dos principios activos, conocidos actualmente como el "esteviósido" y el "rebaudiósido". Sin embargo, las dificultades para la germinación de las semillas hicieron que un intento de exportarlas a Gran Bretaña para cultivarlas comercialmente durante la Segunda Guerra Mundial resultara infructuoso.

En la década de 1970, Japón fue el primer país en adoptar comercialmente el uso de la Stevia. En Paraguay el cultivo a gran escala comenzó en esos años y, desde entonces, se ha introducido paulatinamente en los mercados de todas partes del mundo: Argentina, Francia, España, Colombia, Bolivia, Perú, Corea, Brasil, México, Estados Unidos, Canadá, y sobre todo en China, hoy el principal productor, Malasia, Australia y Nueva Zelanda, entre otros (Brahmachari *et al.*, 2011).

Tanto las hojas secas como el extracto de las mismas se han ido empleando como sustitutos del ciclamato, la sacarina y otros edulcorantes artificiales, con el claro beneficio de ser natural. Su uso se fue aprobando en la forma de aditivos alimentarios en muchos países de todo el mundo y en 2008 en Estados Unidos, los extractos altamente purificados recibieron la categoría de GRAS (Generally Recognized As Safe: sustancia reconocida como segura).

En Europa su uso como alimento ha sido aprobado por la Unión Europea en Noviembre de 2011 (EFSA, 2010), aunque durante el 2010 hubo una ventana legal en la comercialización que permitió su distribución en Francia.

4. Estructura y metabolismo de la Stevia

4.1 Sus componentes

La Stevia es una planta subtropical (un pequeño arbusto perenne) de la familia de las asteráceas (Geuns, 2003) que requiere temperaturas cálidas con escarcha mínima, precipitaciones adecuadas y mucho sol. Es un arbusto que puede alcanzar los 80 centímetros de altura cuando se desarrolla completamente.

Las plantas de la Stevia se cultivan actualmente en todo el mundo, pero principalmente en China, Paraguay, Colombia, India, Kenya y Brasil. La composición química completa de las especies de Stevia aún no está disponible (Goyal *et al.*, 2010). Periódicamente se descubren nuevos constituyentes que van siendo estudiados y descritos en la literatura científica (Wölwer-Rieck, 2012).

Las hojas de la Stevia contienen varios compuestos glicósidos que son los que otorgan el sabor dulce. El género Stevia incluye más de 200 especies, sin embargo, sólo dos de ellas contienen glicósidos de esteviol, siendo la Stevia rebaudiana Bertoni la variedad que contiene los compuestos más dulces (Brandle *et al.*, 1998).

Los glicósidos son moléculas compuestas por un glúcido (generalmente monosacáridos) y un compuesto no glucídico. Los glicósidos desempeñan numerosos papeles importantes en los organismos vivos. Muchas plantas almacenan los productos químicos importantes en forma de glicósidos

inactivos; si estos productos químicos son necesarios, se hidrolizan en presencia de agua y una enzima, generando azúcares importantes en el metabolismo de la planta. Muchos glicósidos de origen vegetal se utilizan como medicamentos. El glúcido se enlaza a través de su carbono anomérico (puede ser alfa o beta) a otro compuesto de diferente naturaleza química. El glúcido del glicósido se conoce como glicona y el grupo ajeno al glúcido, aglicona del glicósido.

Todos los glicósidos de esteviol comparten el mismo núcleo molecular: el esteviol (Figura 1).

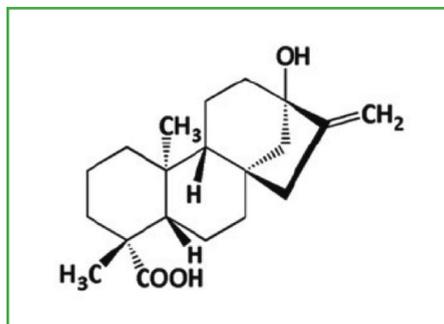


Figura 1: núcleo molecular esteviol.

La única diferencia entre varios glicósidos de esteviol es la cantidad y la disposición de las moléculas de glucosa adheridas al núcleo de esteviol (Figura 2).

En base al peso seco, los cuatro principales glicósidos son el dulcósido A, el rebaudiósido C, el rebaudiósido A y el esteviósido (en general a 0,3%, 0,6%, 3,8%

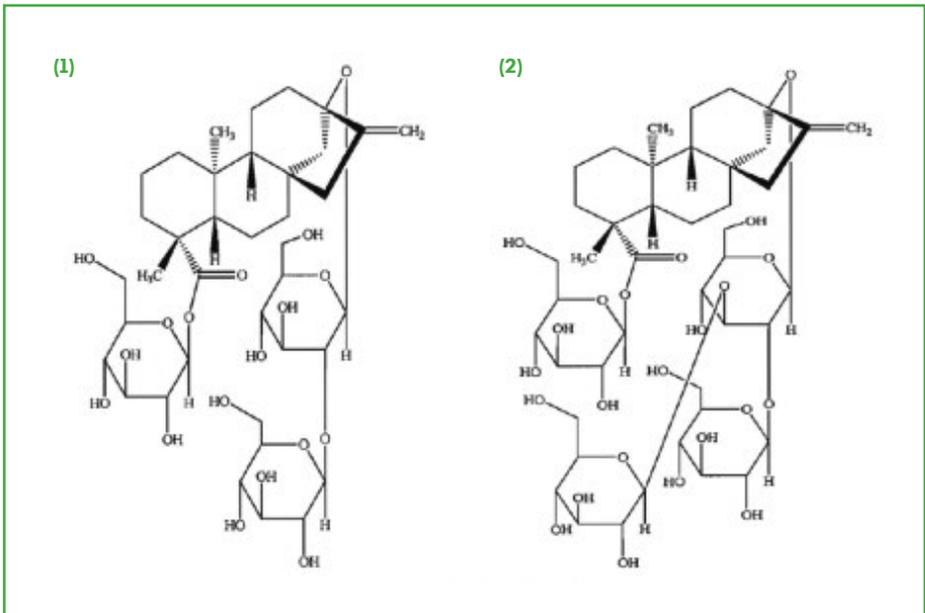


Figura 2: Ejemplos de diferentes glicósidos de esteviol: esteviósidio (1) y rebaudiósido A (2)

y 91%, respectivamente) (Brandle *et al.*, 1998). Otros glicósidos menos importantes incluyen el rebaudiósido B, D, E y F, el esteviolbíosido y el rubosósido.

El rebaudiósido A es de 250 a 450 veces más dulce si se compara con la sacarosa, siendo el de mayor poder endulzante de todos los glicósidos de estas hojas (Chatsudthipong & Muanprasat, 2009).

Existe una amplia variedad de endulzantes elaborados a partir de la Stevia, sin embargo, no todos son elaborados empleando los mismos glicósidos ni los mismos procedimientos para su extracción. En muchos casos, se combinan con edulcorantes artificiales, obteniéndose productos de diferentes calidades.

Los glicósidos de la Stevia se extraen de las

hojas mediante la utilización de agua, en un proceso comparable al de la infusión de té, las hojas de Stevia desecadas se sumergen en agua. El proceso de infusión libera el componente más sabroso de la hoja, el rebaudiosido A. Este componente es posteriormente aislado y purificado (Prakash *et al.*, 2008). En un proceso más moderno, la extracción de las hojas de Stevia permite obtener un primer extracto donde los restantes componentes son removidos por floculación. La solución clarificada se pasa por resinas de absorción para concentrar los glicósidos de esteviol que son eliminados con alcohol. En el último paso se realiza una purificación final en una solución acuosa de alcohol y se recristaliza. Tradicionalmente se ha utilizado metanol, pero el etanol tiene la ventaja de aumentar selectivamente el contenido de rebaudiósido A. Finalmente, el producto cristalizado se filtra y se seca

(Prakash *et al.*, 2008). Esto permite obtener un endulzante de gran pureza y de calidad constante como Truvia®.

4.2 Absorción

El jugo gástrico y las enzimas digestivas tanto de animales como de los seres humanos no pueden degradar el esteviósido (Koyama *et al.*, 2003). Sin embargo, las bacterias de la flora intestinal de ratas (Wingard *et al.*, 1980), ratones (Hutapea *et al.*, 1997), cerdos (Geuns *et al.*, 2003) y humanos (Gardana *et al.*, 2003; Koyama *et al.*, 2003) son capaces de convertir el esteviósido en su aglicona: el esteviol. Las bacterias del colon utilizan la glucosa liberada, por lo que ésta no es absorbida y no aporta calorías. *Bacteroides* sp sería el responsable de esta conversión en el tracto gastrointestinal de ratas y humanos, mientras que las bifidobacterias y lactobacilos no estarían involucrados en esta actividad metabólica. El esteviósido y el rebaudiósido A no influyen significativamente en la composición de la microflora intestinal humana; sin embargo, parece que el esteviósido posee un efecto inhibidor ligero sobre el total de bacterias aerobias, mientras que el rebaudiósido favorece la proliferación de bacterias aerobias totales y coliformes (Gardana *et al.*, 2003).

El incremento de la concentración plasmática portal del esteviol después de la administración oral única a ratas macho de esteviol (45 mg / kg) o una mezcla de Stevia (125 mg / kg; cantidad casi equimolar al esteviol) se muestran en la Figura 3. Se observa una concentración plasmática máxima de esteviol de 18,31 $\mu\text{g} / \text{ml}$ a los 15 minutos después de su administración, lo que indica una rápida absorción de la misma en

el tracto gastrointestinal de ratas. Sin embargo, el tiempo para el aumento de la concentración plasmática del esteviol después de la administración de la mezcla de la Stevia resulta diferente a la observada para el esteviol. Después de la administración de la mezcla la concentración de esteviol era inferior al límite de detección (menos de 0,1 $\mu\text{g} / \text{ml}$) después de 1 h, pero apareció en el plasma a las 2 h, y a partir de entonces aumentó de una manera dependiente del tiempo hasta 8 h después de la dosificación (Koyama *et al.*, 2003).

Estas diferencias entre la administración de Stevia o esteviol son probablemente consecuencia del tiempo necesario para la degradación de la mezcla de Stevia a esteviol en el tracto gastrointestinal de ratas. Mientras que el esteviol se absorbe rápidamente en el estómago o la parte superior del intestino delgado, la mezcla de Stevia se degrada a esteviol por la microflora intestinal y luego es absorbida (probablemente en la parte inferior del intestino grueso) en ratas. La absorción en el intestino humano se produce de una forma análoga a la del intestino de la rata (Koyama *et al.*, 2003).

4.3 Metabolismo y excreción

El esteviol parece ser el principal metabolito del esteviósido que aparece en la circulación sanguínea después de la ingestión oral (Carakostas *et al.*, 2008). En hígado se une al ácido glucurónico formando glucurónido de esteviol (Prakash *et al.*, 2008). Los estudios del metabolismo del esteviósido en los seres humanos encuentran muy bajos niveles sanguíneos de esteviósido o esteviol libre (JECFA, 2005). En voluntarios humanos expuestos oralmente a esteviósido y rebaudiósido A, no se detectó esteviol libre en

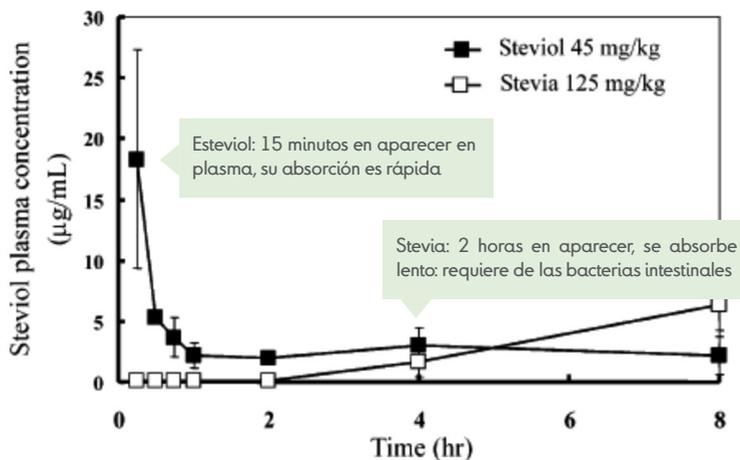


Figura 3: Concentración plasmática portal del esteviol después de una administración oral única a ratas de dosis aproximadamente equimolares de esteviol y Stevia mezcla. Cada punto representa la media de 4 animales. Modificado de Koyama et al, 2003.

sangre, sólo se detectó glucurónido de esteviol. Tampoco se detectó epóxido de esteviol que podría ser mutagénico en humanos (EFSA, 2010).

Respecto a su excreción, las vías biliares y urinarias parecen ser las principales vías para la excreción del glucurónido de esteviol. En los seres humanos, la excreción urinaria parece jugar un papel predominante (Geuns *et al.*, 2006, Wheeler *et al.*, 2008). Un estudio reciente del metabolismo en humanos mostró que a las 72 h después de la ingestión oral, el glucurónido de esteviol, era eliminado por la orina y en heces en un 62% y el 5.2% de la dosis total administrada de esteviósido, respectivamente (Wheeler *et al.*, 2008). No se observó acumulación de los derivados de glicósidos de esteviol en el cuerpo (EFSA, 2010),

Mientras que el esteviol glucurónido se excreta principalmente por la orina en los seres humanos, en ratas es a través de la bilis debido a las diferencias entre especies en el umbral de peso molecular conocido para la eliminación biliar. A pesar de estas diferencias entre las especies, la EFSA concluyó que los estudios en ratas pueden ser usados para evaluar la seguridad de la Stevia en los seres humanos debido a la similitud en la metabolización y excreción por ambos.

Además, como han demostrado Roberts y Renwick (2008), el rebaudiósido A y el esteviósido son metabolizados y excretados por vías similares, siendo el esteviol el metabolito común para ambos (EFSA, 2010). De ahí que muchos estudios realizados con esteviósido puedan aplicarse a rebaudiósido A.

4.4 Influencia sobre la biodisponibilidad de otros nutrientes de la dieta

El esteviósido no influye en la absorción de otros nutrientes esenciales como aminoácidos, vitaminas, minerales, etc., tal como se ha observado en diferentes estudios realizados en animales, en ratas y hamsters (Grens *et al.*, 2003).

5. Características de su dulzor y efectos sobre la palatabilidad y estabilidad

5.1 Poder endulzante

El poder endulzante para los edulcorantes de alta potencia está dado por su equivalencia en sacarosa. Sin embargo, es importante definir el medio en que esta determinación se realiza (agua, ácido fosfórico, a qué pH, etc.), si este aspecto no se aclara se asume que se mide en agua. Un uso razonable de los edulcorantes de alta potencia es emplearlos en concentraciones del 4-8%, es por eso que resulta prudente hacer la comparación a una concentración del 6% (Prakash *et al.*, 2008). El poder edulcorante del Rebaudiósido A (que recordemos era el glicósido de sabor más dulce) es similar al del aspartame (Tabla 2, Figura 4).

5.2 Perfil del sabor

De los glicósidos de la Stevia, el Rebaudiósido A además de poseer un dulzor más pronunciado tiene un mejor perfil

Edulcorante	Poder endulzante aproximado
Acesulfame K	200
Aspartame	200
Rebaudiósido A	200-300
Neotame	8000
Sacarina	300
Sucralosa	600

Tabla 2: Potencias aproximadas de los edulcorantes de alta potencia (sacarosa=1). Modificado de Prakash *et al.*, 2008.

de palatabilidad, teniendo menor sabor amargo o a regaliz que se ha asociado a otros glicósidos de la Stevia (Brahmachari *et al.*, 2011, Goyal *et al.*, 2010) o a la presencia de aceites esenciales, taninos, y flavonoides de la misma (Goyal *et al.*, 2010).

Tras ser evaluada por un panel entrenado,

se observó que los atributos amargos y el sabor a regaliz negro eran bajos e insignificantes a concentraciones inferiores al 6%, mientras que a concentraciones superiores (es decir, > 6%), esos sabores se convierten en notables (Figura 5).

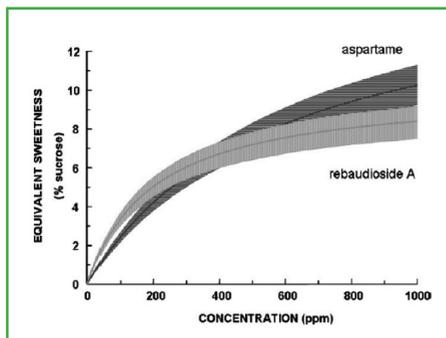


Figura 4: El poder edulcorante del rebaudiosido A en relación al aspartame

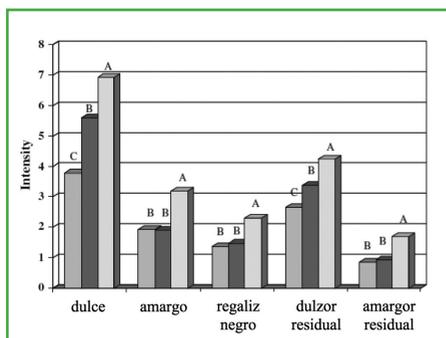


Figura 5: Perfil de sabor descrito de la rebiana en 112 (azul), 236 (rojo) y 529 (amarillo) mg / l de agua. Con la misma letra no hay diferencias significativas. Adaptado de Prakash et al., 2008

5.3 Perfil del sabor en el tiempo

La percepción del sabor puede tener cambios en el tiempo, esta propiedad es muy importante para su empleo en comidas y

bebidas y es un complemento a su perfil de sabor.

Todos los edulzantes tienen dos características: un tiempo de aparición (TA) del sabor y un tiempo de extinción (TE). Los edulcorantes de alta potencia, a diferencia de los edulzantes calóricos naturales (sacarosa, etc.) poseen un prolongado tiempo de extinción. Esto es muy útil en algunos productos como los chicles donde la perduración del dulzor es muy deseable (Prakash et al., 2008).

Los glicósidos constituyentes de la Stevia tienden a producir un sabor dulce menos instantáneo e inmediato que la sacarosa, pero su sabor se prolonga por un largo período (Kinghorn et al., 1989). Como se muestra en la Figura 6, el TA máximo fue menor para la sacarosa, un poco más largo para el aspartame y el más largo para la rebiana. El TE fue el más largo para la rebiana, seguido por el aspartame y luego la sacarosa. Siendo el TE de la rebiana significativamente mayor que con sacarosa (Young & Wilkens, 2007).

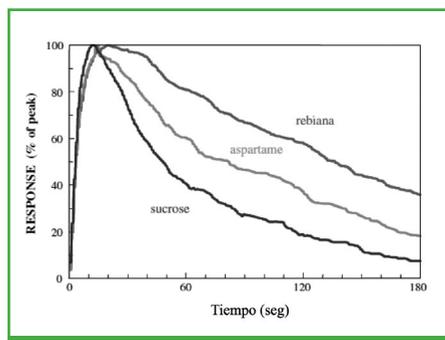


Figura 6: Tiempo de aparición (TA) del dulzor y tiempo de extinción (TE) para la rebiana, aspartame y sacarosa. Young & Wilkens, 2007

5.4 Estabilidad

En un amplio estudio, el esteviósido se incubó hasta 3 meses a valores de pH que van desde 2 a 8 y temperaturas que van de 5 a 90 ° C, durante las cuáles no se generaron cantidades detectables de ruptura de esteviol, indicando la estabilidad del esteviósido para cocinar, durante el almacenamiento o procesamiento (Pezzuto *et al.*, 1985).

Rebaudiana A es más estable que el aspartamo y el neotamo a pH bajo y alto y en preparaciones con sometimiento a calentamiento. Un ejemplo es que se mantuvo

sin pérdidas significativas durante el proceso de cocción (180 ° durante 20-25 min) (Prakash *et al.*, 2008; Goyal *et al.*, 2010). La rebiana es estable durante al menos dos años a temperatura ambiente y bajo condiciones de humedad controladas y a un pH variable de 3 a 9 (Prakash *et al.*, 2008; Goyal *et al.*, 2010).

6. Efectos biológicos y potenciales aplicaciones terapéuticas de la Stevia

6.1 El ahorro energético y su importancia en el tratamiento de la Obesidad

6.1.1 Datos de prevalencia de Obesidad en España y en el mundo

La obesidad constituye uno de los mayores problemas de salud pública en el S.XXI afectando a más de un billón de adultos a nivel mundial (WHO, 2008). Su prevalencia se ha triplicado en muchos países europeos desde 1980 y el número de afectados sigue en aumento. En Europa la prevalencia varía según los países, alcanzándose los valores más altos en los países del este y centro de

Europa, desde un 5% hasta un 23% en varones, y desde un 7% a un 36% en mujeres. Actualmente es la responsable del 2-8% del coste sanitario y del 10-13% de las muertes en diferentes regiones de Europa (Branca *et al.*, 2007; Elmadfa *et al.*, 2009).

Una situación igual de prioritaria, pero aún más alarmante, es la que ocurre en E.E.U.U, donde entre los años 1960 y 2000 la prevalencia de obesidad en adultos se ha incrementado del 13,4% al 30,9% (Greenwood *et al.*, 2008) y según datos recientes estas cifras ya se sitúan en el 33% (Khan *et al.*, 2009).

De acuerdo a los datos del IOTF (International Obesity Task Force) los cinco países con mayores prevalencias de obesidad son: Nauru en el sudeste asiático (80 % en los hombres y 78 % en las mujeres), seguido de Líbano en la región del Mediterráneo oriental (36 % en hombres y 38 % en las mujeres), los Estados Unidos en la región de América del Norte (31 % en hombres y 33 % en las mujeres), Croacia en la región de Europa (31 % en los hombres y 15 % en las mujeres) y Panamá en la región sudamericana (28 % en los hombres y el 36 % en las mujeres) (Aranceta *et al.*, 2009).

En España, según el estudio realizado por la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) en el año 2000, en las comunidades autónomas de Madrid, Cataluña, País Vasco, Valencia, Andalucía, Baleares, Canarias y Galicia, se observó que entre la población adulta (entre 25 y 60 años) el padecimiento de obesidad afectaba al 14,5% de los individuos, y el de sobrepeso al 38,5%. De acuerdo con los resultados del estudio DORICA se estimó una prevalencia del 15,5%, con una prevalencia más elevada en las mujeres, (17,5%) que en los varones (13,2%) (Aranceta-Bartrina *et al.*, 2005). Dichos datos permiten situar a España en un punto intermedio entre los países con las menores y mayores proporciones (Aranceta-Bartrina *et al.*, 2005; WHO, 2005). Según el último estudio: Estudio ENRICA (Estudio de Nutrición y Riesgo Cardiovascular en España) 2008-2010, las cifras de sobrepeso ascienden al 39,4% y obesidad: 22,9%, siendo la sobrecarga ponderal total del 62% de la población (Gutiérrez-Fisac *et al.*, 2011).

Las proyecciones de futuro realizadas indican que, si no se actúa inmediatamente,

para el año 2030 el 100% de la población adulta americana presentará obesidad, mientras que en España, hasta ese año, la población obesa masculina aumentará en el 33% y la femenina en el 37% (Costa-Font & Gil, 2005).

6.1.2 Complicaciones de esta enfermedad

La obesidad se asocia a complicaciones severas y los enfermos obesos tienen un mayor riesgo de morbilidad (Sastre Gallego, 2009; Schelbert, 2009).

En este sentido, se ha comprobado que la mortalidad empieza a aumentar cuando el IMC supera los 25 kg/m². Las personas con un IMC superior o igual a 30 kg/m² presentan un incremento de aproximadamente entre el 50 y el 100% tanto en la mortalidad total como en la debida a ECV, respecto a la población con un IMC de 18,5 a 25 kg/m² (Sharma & Chetty, 2005).

Las comorbilidades y otras enfermedades que con más frecuencia se asocian a la obesidad son la hipertensión arterial, enfermedad cardiovascular (ECV), diabetes mellitus tipo 2 y dislipemias. Además de estas alteraciones cardiovasculares y metabólicas, las personas obesas también pueden sufrir un conjunto de enfermedades que abarcan diferentes sistemas, como son reflujo gastroesofágico, artrosis, artritis, gota o neoplasias, y desórdenes respiratorios, entre los que se encuentran el síndrome de apnea obstructiva del sueño o el síndrome de hipoventilación (Formiguera & Cantón, 2004).

En los últimos años se ha demostrado que el tejido adiposo se comporta como un órgano endocrino y libera productos

metabólicos, hormonas y adipoquinas, entre las que se encuentran la leptina, adiponectina, resistina, ácidos grasos libres (AGL), factor de necrosis tumoral α (*TNF- α*), *IL-6* y *PAI 1* (Gnacińska *et al.*, 2009). La importancia de estas adipoquinas es tal que, según algunos autores, tratar la obesidad es más que lograr una pérdida de masa grasa, es también el tratamiento de sus comorbilidades, muchas de las cuales algún día serán tratadas con fármacos que ejerzan su control neutralizando los efectos inducidos por el exceso de adipoquinas (Wozniak *et al.*, 2009).

Por otra parte, no todos los depósitos grasos presentan el mismo patrón de secreción de las diferentes adipoquinas. En concreto, numerosos trabajos han demostrado que los depósitos de grasa visceral son metabólicamente más activos que los de grasa subcutánea y están más implicados en el desarrollo de patologías asociadas a la obesidad, como la diabetes de tipo 2 y la enfermedad coronaria. Además, se ha relacionado el acumulo de grasa visceral con un mayor riesgo de ECV en el Síndrome Metabólico (SM) (Moreno-Aliaga *et al.*, 2008).

6.1.3 Dieta y ejercicio: pilares del tratamiento de esta enfermedad

Las funciones vitales del organismo requieren un determinado gasto energético, que debe ser compensado con la energía procedente de la dieta. El balance energético atiende a las leyes de la termodinámica y está integrado por dos componentes: la ingesta energética y el gasto energético (Jequier & Tappy, 1999).

El balance energético se mantiene equilibrado si la ingesta es semejante al gasto.

El sobrepeso y la obesidad se caracterizan por un depósito de grasa más elevado del que se considera normal, originado por un desequilibrio crónico del balance. Este desequilibrio puede estar producido por un aumento de la ingesta energética, por una disminución del gasto energético o por ambas situaciones a la vez (Redinger, 2009).

En los últimos años se ha producido en nuestro país un cambio en los patrones alimentarios tradicionales que ha sido responsable, en parte, del aumento de la prevalencia del sobrepeso y la obesidad. Por otra parte, ha aumentado el número de comidas realizadas fuera del hogar (Nielsen *et al.*, 2002), hecho que también repercute en el aumento de la obesidad (French *et al.*, 2001). Esto puede ser debido a que los alimentos que se consumen fuera de casa presentan mayor proporción de grasa y grasa saturada, y menor proporción de fibra y micronutrientes que los que se preparan en casa (French *et al.*, 2001).

La inactividad física es otra de las causas de la obesidad y es el resultado del cambio de patrones de conducta que derivan hacia estilos de vida más sedentarios. La vida en las ciudades, las nuevas tecnologías, el ocio pasivo y el mayor acceso a los transportes, han disminuido la necesidad de ejercicio físico en las actividades de la vida diaria (Bastos *et al.*, 2005).

Al realizar un breve repaso de cómo ha evolucionado la actividad física cotidiana del ser humano es fácil apreciar la transformación hacia el sedentarismo. El hombre primitivo realizaba todas sus tareas sin la ayuda de ningún tipo de maquinaria: desde los desplazamientos hasta la obtención de alimentos representaban un esfuerzo físico

importante. Pasando por las diferentes etapas en la evolución, hemos llegado a la actualidad en que el ser humano de la sociedad industrializada se ha transformado en una persona extremadamente sedentaria. Los resultados disponibles sugieren que una situación de sedentarismo, evaluada a través de distintas estimaciones como horas de tiempo sentado en tiempo de ocio, intensidad de actividad física, etc., es un importante factor de riesgo de obesidad (Martínez-González *et al.*, 2001).

Algunos estudios han encontrado correlaciones entre la actividad física en el tiempo de ocio (inversas) o el tiempo destinado a estar sentado (directas) con el índice de masa corporal. Así, una baja participación en actividades deportivas, una ausencia de interés en participar en la actividad física y un alto número de horas de permanencia sentado en el trabajo son predictores significativos de obesidad. (Parsons *et al.*, 2005; Kimm *et al.*, 2005). Otros estudios y cuestionarios, utilizando indicadores indirectos de actividad física como número de coches por hogar y número de horas sentado durante el tiempo de ocio, señalan que la reducción del gasto energético podría ser un determinante importante de la evolución de las tasas de obesidad en la actualidad (Prentice, 2001).

Mientras que una disminución del gasto de energía de 100-200 Kcal/día por actividades sedentarias pueden causar aumento de peso, un aumento del gasto de 100-800 Kcal/día en actividad física no planificada durante las actividades rutinarias, es suficiente para impedir el aumento de peso (Redinger, 2009).

Además la actividad física también ha

disminuido en el tiempo de ocio, siendo destacable el caso de la población infantil y juvenil, en los que ha aumentado el tiempo que dedican a jugar con los ordenadores y videojuegos y el tiempo dedicado a ver la televisión (AESAN, 2005; Kautiainen *et al.*, 2005). Datos referidos al Reino Unido sugieren que, por término medio, en la actualidad se dedican 26 horas a la semana a ver la televisión, mientras que en la década de 1960 se situaban en 13 horas. (Molnar *et al.*, 2000).

Las personas que se mantienen activas tienen en general menor riesgo de padecer enfermedades degenerativas, especialmente enfermedad cardiovascular, obesidad, hipertensión, infarto cerebral, osteoporosis y diabetes. Además, el ejercicio físico realizado regularmente también produce una mayor sensación de bienestar general: se ha destacado su relevancia en el control de la ansiedad, del estrés y en la mejora de la autoestima (Pinto Fontanillo *et al.*, 2003).

6.1.4 El papel de la Stevia en las dietas para el control del peso

Muchas dietas de adelgazamiento actualmente utilizadas se basan en la restricción de calorías. Sin embargo, la regulación del peso corporal, además de estar influenciada por la cantidad de energía ingerida, también lo está por la composición de la dieta, por lo que se deben tener en cuenta ambos aspectos.

Las dietas prescritas para el tratamiento de la obesidad deben ser hipocalóricas y equilibradas. Se prescribirá una dieta que aporte entre 500 y 1000 kcal menos de las requeridas, con el fin de conseguir una

pérdida de peso de 2 a 4 kg al mes. Una pérdida de peso superior a la indicada debe ser vigilada porque podría ser indicadora de una desnutrición proteica por pérdida de masa magra (Russolillo *et al.*, 2003).

La Stevia es un endulzante natural y sin calorías que permite contribuir a una reducción del aporte energético de la dieta, manteniendo el placer y la satisfacción al comer. Poder recurrir a la preparación de alimentos dulces sin añadir calorías permite también una mayor adherencia a la dieta, ya que evita el aburrimiento y la monotonía que suele llevar a su abandono.

Por otro lado, el consumo de Stevia no afecta el nivel de ingesta de la comida siguiente ya que tras su administración a adultos normopeso o con sobrepeso, ambos informaron niveles similares de hambre y saciedad, y no aumentaron su ingesta calórica en la siguiente comida. Esto se evaluó en un estudio en el que participaron 19 personas normopeso y 12 obesos de 18 a 50 años de edad. Los participantes recibieron aperitivos balanceados con presencia de Stevia, aspartamo o sacarosa antes del almuerzo y cena. A pesar de la diferencia calórica aportada por esos aperitivos, los sujetos no compensaron comiendo más en su almuerzo y cena, cuando consumieron Stevia o aspartamo en comparación con la sacarosa. Los niveles de hambre y saciedad autoinformados también fueron similares (Anton *et al.*, 2010).

6.2 Efecto antihiper glucémico

6.2.1 Datos de prevalencia de Diabetes en España y en el mundo

En la actualidad, hay un fuerte aumento en la incidencia de diabetes mellitus tipo 2 como resultado del envejecimiento, los hábitos dietéticos y la disminución de la actividad física. La Diabetes mellitus tipo 2 es un desorden metabólico crónico que resulta de defectos en la secreción de insulina por los islotes beta del páncreas y acción de la insulina. Además de las anomalías en la insulina, la disfunción de las células del páncreas y el exceso de glucagón están implicados.

La hiperglucemia posprandial observada en la diabetes tipo 2 generalmente se debe a un aumento en la producción de glucosa hepática y una disminución de la utilización de la glucosa periférica (Chatsudthipong & Muanprasat, 2009).

La hiperglucemia crónica, incluso en ausencia de síntomas, conlleva lesiones en múltiples tejidos, con daños especialmente sensibles en los pequeños vasos de la retina, los riñones y los nervios periféricos. Por ello, la diabetes es una de las principales causas de ceguera, amputaciones y enfermedad renal terminal en las sociedades desarrolladas. Adicionalmente, la diabetes conlleva un importante riesgo de ECV, tanto por sí misma como por su asociación a otros factores de riesgo, como hipertensión arterial y dislipemia.

Sus proporciones son ya epidémicas en la mayor parte del mundo: se estima que actualmente existen 246 millones de personas afectadas en todo el planeta, una cifra que

puede llegar a los 380 millones en el año 2025 si se cumplen las últimas predicciones. En España, numerosos estudios han intentado establecer la prevalencia de diabetes (Valdes *et al.*, 2007). La mayoría muestran tasas de prevalencia de diabetes que oscilan entre un 10% y 15%. Según el último estudio realizado y publicado recientemente, cerca del 30% de la población tenía alguna alteración en el metabolismo de los hidratos de carbono. La prevalencia total de diabetes mellitus ajustada por edad y sexo fue de 13,8%, de éstos, casi la mitad desconocía que tenía la enfermedad (6,0%) (Soriguer *et al.*, 2012).

6.2.2 Efecto de la Stevia sobre el metabolismo de la glucosa

El extracto de Stevia ha sido utilizado para el tratamiento de la diabetes en América del Sur durante muchos años (Kingham & Soejarto, 2002). Además, los glicósidos de la Stevia tienen un dulzor sin calorías y sólo una pequeña cantidad es necesaria para endulzar. Este aspecto, sumado a que no induce respuesta glucémica tras su ingesta lo convierte en una buena opción para endulzar para los diabéticos.

El efecto de la Stevia y sus diferentes compuestos derivados sobre la glucemia ha sido estudiado a lo largo de los años a través de estudios *in vitro*, en estudios en animales y humanos, obteniéndose diferentes resultados.

Uno de los primeros estudios mostró que la administración del esteviósido en una concentración de 0,5 g % y de polvo de hojas de Stevia a 10 g %, tanto en las dietas altas en carbohidratos como altas en grasa provocó una reducción significativa del nivel de

glucosa en sangre después de 4 semanas de tratamiento en ratas (Susuki *et al.*, 1977).

Más tarde, Curi *et al.* (1986), trasladó estas observaciones en ratas a humanos, observando que después de la ingesta del extracto acuoso de hojas de Stevia, 5 g % cada 6 horas durante 3 días, se observaba una reducción significativa en el nivel de glucosa en plasma durante la prueba de tolerancia a la glucosa y después del ayuno nocturno en todos los sujetos sanos.

Estas observaciones apoyaban la idea de que el esteviósido y el extracto de Stevia pueden ser utilizados en pacientes diabéticos (Curi *et al.*, 1986).

Se ha postulado que el efecto antihiper glucémico de la Stevia se basaría en tres posibles acciones:

- Efecto en la absorción de glucosa:

1 mM de esteviol podría inhibir la absorción de glucosa en un 40%. El esteviol provocaría una disminución de la absorción de glucosa por el tejido intestinal, actuando sobre el borde en cepillo. Esto podría producirse por una reducción del contenido de ATP en la mucosa intestinal como consecuencia de una disminución de la actividad enzimática vinculada a la fosforilación y alteraciones morfológicas de las células intestinales. Sin embargo, la ingesta admisible de esteviol, produciría una llegada a nivel intestinal de cantidades inferiores (20 μM) a la necesaria para que se inhiba su absorción (Toskulka *et al.*, 1995).

- Efecto en la síntesis de glucosa:

Este efecto estaría mediado por la acción del

esteviol sobre la enzima fosfoenol-piruvato carboxi-quinasa (PEPCK), una enzima que limita la velocidad de gluconeogénesis en el hígado. Por lo tanto, parece probable que el esteviósido disminuye la gluconeogénesis en el hígado a través de la supresión de la expresión de genes de la PEPCK lo que conduce a una disminución en el nivel de glucosa en plasma en ratas diabéticas. Se estudió el efecto del esteviósido en la glucemia y el metabolismo de la insulina en dos modelos de ratas diabéticas. Se informó que el esteviósido a una dosis de 0,5 mg / kg reducía los niveles de glucosa en la sangre de una forma dosis dependiente. También se describió una capacidad del esteviósido de reducir la resistencia a la insulina en animales diabéticos. Por lo tanto, los investigadores concluyeron que el esteviósido fue capaz de regular los niveles de glucosa en la sangre mediante la mejora no sólo la secreción de insulina, sino también la utilización de la insulina en ratas con deficiencia de insulina y esto se debió a la disminución de la expresión génica en hígado de rata de los niveles de PEPCK (Chen *et al.*, 2005).

Sin embargo, este efecto no se produciría en una situación normal (sin presencia de hiperglucemia). Curiosamente, un estudio reciente ha comparado los efectos de las hojas de Stevia y el esteviósido sobre la glucemia y la gluconeogénesis hepática en ratas normales, en este estudio, la administración oral de una mezcla de esteviósido/rebaudiana en ayunas a ratas Wistar de 5.5mg/kg peso corporal / día por 15 días no tuvo ningún efecto, mientras que las hojas de Stevia en polvo a una dosis de 20 mg / kg peso corporal / día redujo la concentración de glucosa en plasma por disminución de la actividad de la piruvato-

carboxilasa y la PEPCK. La explicación de esta observación no se conoce. Como las hojas de Stevia contienen una variedad de compuestos activos, no se ha identificado aún cuál sería el que muestra el efecto. Sin embargo, el autor destaca que el esteviósido no tiene ningún efecto en la reducción de la glucosa en plasma en condiciones normales que eran las de este estudio. (Ferreira *et al.*, 2006).

- Efectos sobre la secreción y sensibilidad a la insulina

En presencia de glucosa en concentraciones de 16,7 mM, ambos esteviósido y esteviol aumentaron la secreción de insulina de los islotes del páncreas de ratas de una manera dosis-dependiente (1 nM a 1 mM). A pesar de que ambos esteviósido y esteviol, tendrían un efecto insulínico y anti-hiperglucémico, el esteviol resultó más potente que el esteviósido (Jeppensen 2000).

Para determinar si el efecto del esteviósido observado *in vitro* se produce en un modelo animal, el mismo grupo de investigadores llevó a cabo la prueba de tolerancia a la glucosa en un modelo animal de ratas no obesas con diabetes tipo 2 y normales, en presencia o ausencia de esteviósido. La inyección en bolo de esteviósido (0,2 g / kg peso) junto con glucosa (2,0 g / kg de peso corporal) indujo la secreción de insulina, suprimió el nivel de glucagón en el plasma y redujo la glucosa en sangre como respuesta a la prueba de tolerancia a la glucosa en ratas. Estos resultados apoyan la idea de que el esteviósido posee propiedades anti-hiperglucémicas, insulínicas y glucagonostáticas en ratas diabéticas (Jeppensen 2002).

Por su parte, el rebaudiósido A estimula la liberación de insulina a partir de islotes de ratón en la presencia de alta concentración de glucosa (>6.6 mM) en una forma dosis-dependiente (Abudula *et al.*, 2004). Esta acción requiere Ca^{2+} extracelular. Sin embargo, en un estudio in vivo a largo plazo en ratas con el rebaudiósido A, no logró estimular la secreción de insulina (Dyrskog *et al.*, 2005).

Del mismo modo, a largo plazo el consumo de rebaudiósido A durante 16 semanas por sujetos con diabetes mellitus tipo 2 no tuvo ningún efecto sobre homeostasis de la glucosa, perfil de lípidos y tensión arterial (Maki *et al.*, 2008). La dosificación de rebaudiósido A (1000 mg / día) utilizada en este estudio es de aproximadamente 7 veces mayor que la ingesta diaria de edulcorante para diabéticos adultos. Tras este estudio, los investigadores concluyeron que el rebaudiósido A es bien tolerado pero no tiene efecto farmacológico sobre la homeostasis de la glucosa in vivo.

En otro estudio con una comida de prueba estándar suplementada con 1 g de esteviósido (utilizando 1 g de almidón como control), dado a 12 pacientes diabéticos tipo 2, el esteviósido era capaz de reducir los niveles de glucosa postprandial en sangre alrededor del 18%. Se observó un ligero aumento en la circulación de insulina y la disminución de los niveles de glucagón. El índice glucosa/insulina indicó un aumento en la secreción de insulina en un 40% después del tratamiento con el esteviósido. Como no se observó pérdida de glucosa en orina tras la ingesta del esteviósido, esto indicaría que el esteviósido podía tener un efecto directo sobre la utilización de la glucosa periférica inducida por la insulina

que sería la responsable de la disminución del nivel de glucosa en sangre postprandial (Gregersen *et al.*, 2004).

En contraste con lo anterior, Barriocanal *et al.* (2008) ha informado recientemente que el esteviósido usado a largo plazo consumiendo 250 mg 3 veces / día durante 3 meses, una cantidad similar a la que es utilizada como edulcorante, no producía ningún efecto farmacológico en los pacientes con diabetes tipo 1 y tipo 2, así como en los individuos normotensos e hipotensos. La falta de efecto sobre la glucosa en la sangre o la presión arterial del esteviósido no se conoce, pero estos autores señalan que el esteviósido parecería tener la capacidad de reducir la glucosa y la presión arterial sólo cuando estos parámetros se encuentran anormalmente elevados (Barriocanal *et al.*, 2008)

Estos resultados son consistentes con los obtenidos previamente en estudios sobre los efectos a corto plazo en voluntarios sanos, en el que esteviósido (97% de pureza) administrado por vía oral en dosis de 750 mg / día durante 3 días no produjo efecto significativo en la glucosa sanguínea y las concentraciones de insulina (Geuns *et al.*, 2007).

Además del esteviósido y el esteviol, isoesteviol, un compuesto del metabolismo del esteviósido, mejora el perfil de lípidos y regula al alza la expresión de genes de células beta, incluyendo factores reguladores de la transcripción de la insulina, mejorando así la homeostasis de la glucosa, aumentando la sensibilidad a la insulina, reduciendo los triglicéridos en plasma y favoreciendo la reducción de peso de los ratones diabéticos (Nordentoft *et al.*, 2008)

En un estudio reciente Geeraert *et al.* (2010) informaron que el tratamiento con esteviósido se asoció a una mejora en la señalización de la insulina y la defensa antioxidante, tanto en el tejido adiposo como en la pared vascular, conduciendo a la inhibición del desarrollo de la placa aterosclerótica y la inducción de estabilización de la placa en ratones obesos resistentes a la insulina. El tratamiento con el compuesto de ensayo también encontró que estaba asociado con un aumento al doble de los niveles de adiponectina, responsable de la señalización de la insulina y la defensa antioxidante tanto en el tejido adiposo y aorta en ratones (Geeraert *et al.*, 2010).

6.3 Efecto antihipertensivo

La presión arterial media varía directamente con el tono de la resistencia sistémica vascular periférica o total y el volumen de sangre. En los estados patológicos la hipertensión arterial es el resultado de una relación inapropiada entre la capacidad vascular/resistencia y el volumen sanguíneo.

Los primeros estudios tanto en animales como en humanos han demostrado que el esteviósido y el extracto de Stevia disminuyen la presión arterial media por inducir vasodilatación por disminución de la presión vascular periférica y por la inducción de la diuresis, así como la natriuresis, lo que lleva a una disminución del volumen plasmático (Melis, 1995; Melis & Sainati, 1991).

Los estudios en humanos han demostrado también el efecto del esteviósido en el sistema cardiovascular. El esteviósido causa bradicardia e hipotensión (Humboldt y Boech, 1977). Del mismo modo, un efecto

hipotensor leve fue observado en seres humanos que recibieron diariamente un té preparado con extracto de Stevia durante 30 días (Boeckh y Humboldt, 1981). En estos estudios, también se sugirió que la Stevia tendría un efecto inotrópico (bloqueo de los canales que expulsan el calcio fuera de las células). Esto provoca que el calcio se almacene en el retículo sarcoplásmico del músculo y hace que la próxima contracción del corazón sea más vigorosa por acortamiento de la duración de la sístole.

La concentración intracelular de Ca^{2+} es importante para la contracción del miocardio y vasoconstricción, lo que determina la resistencia vascular periférica. Melis & Sainati (1991) encontraron que la infusión intravenosa de esteviósido produce un efecto hipotensor marcado de una manera dosis-dependiente, que es probable que se produzca a través de un efecto vasodilatador que actúa a través de las vías del Ca^{2+} (Melis & Sainati, 1991)

Existen diferentes estudios en relación al efecto del esteviósido sobre la presión arterial, algunos demuestran un resultado hipotensor y otros no (**ANEXO 1**). En función de estos estudios el esteviósido reduce la presión arterial media actuando por diversos mecanismos, pudiendo reducir el volumen plasmático y la resistencia vascular. Sin embargo, el esteviósido no parece tener ningún impacto significativo en la presión arterial en los seres humanos con presión arterial normal y normal-baja en reposo.

Una revisión sistémica reciente ha considerado que la evidencia científica respecto al efecto antihipertensivo de la Stevia es de **grado B**: lo que significa buena evidencia científica (Ulbricht *et al.*, 2010).

6.4 Efecto antidiarreico

La diarrea es definida como un aumento del contenido de agua o la frecuencia de la evacuación de las heces, por lo general más de 3 veces/día (Binder, 1990). La causa más común de esta patología son las infecciones intestinales provocadas por bacterias y virus (Petri *et al.*, 2008). Estos patógenos pueden causar un daño directo por su invasión en el intestino o alterar las funciones intestinales, resultando en síntomas de diarrea.

La diarrea puede ser clasificada en 4 tipos: secretora, osmótica, relacionada con la motilidad y diarrea exudativa (Binder, 1990). En la actualidad, el pilar del tratamiento de la diarrea es la terapia de rehidratación y tratamiento antibiótico. Sin embargo, el primero es principalmente de apoyo y el segundo resulta ineficaz en situaciones en las que existe resistencia a los antibióticos. Por lo tanto, existe la necesidad de encontrar nuevas opciones terapéuticas para las enfermedades diarreicas. La identificación de posibles medicamentos antidiarreicos provenientes de la medicina tradicional representa una estrategia atractiva y su eficacia y seguridad han sido apoyados por experiencias en humanos (Chatsudthipong & Muanprasat, 2009).

La aplicación potencial del estevióside en el tratamiento de la diarrea fue sugerida originalmente a partir de observaciones del efecto bactericida y anti-rotavirus del extracto de agua caliente de la Stevia. Tomita *et al.* (1997) fueron los primeros en reportar un efecto bactericida de este extracto contra una amplia gama de bacterias patógenas transmitidas por los alimentos, incluyendo la enterohemorrágica *Escherichia coli*, que provoca graves diarreas hemorrágicas y exudativa.

A una concentración de 1 mM, el estevióside inhibe la contracción muscular del ileon inducida por cloruro cálcico en el conejillo de indias en un 40%. El mecanismo se cree que está relacionado a su efecto inhibitorio sobre el flujo de calcio en las células musculares. Por lo tanto, el estevióside puede ser útil en el tratamiento de la diarrea que resulta por enfermedades infecciosas intestinales, en hipermotilidad, como el síndrome del intestino irritable y en la enfermedad inflamatoria intestinal. Sin embargo, el autor concluye con que son necesarios otros estudios en modelos animales para demostrar este efecto. Por otro lado, también se refiere una baja potencia del estevióside para esta actividad por lo que se requiere evaluar otros componentes o derivados de la Stevia que podrán tener mayor poder (Shiozaki *et al.*, 2006).

Un polisacárido que contiene compuestos de gran tamaño, con un peso molecular de 9800 Da, se aisló y se sugirió como posible responsable del efecto inhibitorio viral. Sin embargo, otras fracciones de la Stevia también se encontró que producen similares propiedades anti-rotavirus. Por lo que es posible que los glicósidos relacionados con el estevióside contribuyan a paliar los efectos de la diarrea (Chatsudthipong & Muanprasat, 2009). Sin embargo, este autor también concluye que es necesaria más investigación sobre este posible efecto de la Stevia.

6.5 Efecto anti-inflamatorio y anticancerígeno

La inflamación es una reacción inmune innata del tejido vascular frente a estímulos nocivos como patógenos, agresores de las células o irritantes. Células satélites como las células inmunes, epiteliales y endoteliales

participan de forma interactiva en este proceso para eliminar los estímulos nocivos e iniciar el proceso de curación. Sin embargo, la inflamación se asocia a una variedad de trastornos, enfermedades autoinmunes, enfermedad inflamatoria intestinal, la aterosclerosis y cáncer (Chatsudthipong & Muanprasat, 2009).

Existen indicios preliminares, aunque provenientes de ensayos *in vitro* (células tumorales humanas) e *in vivo* (ratas y ratones), de que el esteviósido podría presentar un posible papel antiinflamatorio y antitumoral, sin que ello se haya confirmado en humanos. Algunos de los estudios al respecto se resumen en el **ANEXO 2**.

6.6 Efecto anticariogénico

El uso de diferentes tipos de edulcorantes con bajo efecto cariogénico resulta de amplio interés en la prevención de la caries y la promoción de la salud oral (Matsukubo *et al.*, 2006).

Para evaluar el efecto de la Stevia sobre la caries dental se alimentó con una dieta conteniendo 0,5% de esteviósido o 0,5% de rebaudiósido A durante 5 semanas a ratas. Ninguno de estos compuestos ha demostrado potencial de riesgo para desarrollar caries dentales (Das *et al.*, 1992; Kinghorn *et al.*, 1989). Por lo tanto, su uso tendría interés para mantener la salud dental (Geuns, 2003; Matsukubo & Takazoe, 2006).

La Stevia al no producir un aumento en la acidez de la superficie del diente tiene un efecto no cariogénico (Goodson *et al.*, 2010).

El efecto antibacteriano también contribuye

a su acción anticariogénica. Es por ello que se ha utilizado como componente de pastas dentales y enjuagues bucales (Goyal *et al.*, 2010). Sin embargo, otros autores sostienen que a pesar de que altas concentraciones del esteviósido y extractos de Stevia mostraron una reducción del crecimiento de algunas bacterias, las concentraciones habitualmente utilizadas como endulzante son bajas para lograr este efecto. Por lo tanto, el principal efecto beneficioso del uso de esteviósido sería por la sustitución de la sacarosa en el alimento por una sustancia no cariogénica (Geuns, 2003).

Esta característica de la Stevia podría tener especial interés en personas con elevada tendencia a la caries dental o cuando se consumen determinados fármacos que aumentan la susceptibilidad a su desarrollo (Matsukubo & Takazoe, 2006).

6.7 Efecto antioxidante

Los antioxidantes son micronutrientes que han adquirido importancia en los últimos años por la capacidad de neutralizar a los radicales libres. Los radicales libres han sido implicados en la etiología de varios de los principales enfermedades humanas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, trastornos neuronales, la diabetes y la artritis (Devasagayam *et al.*, 2004).

El método DPPH (empleando 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) permite determinar la capacidad antioxidante de una sustancia. Utilizando este método, la capacidad de eliminación de radicales libres de las hojas de Stevia resultó levemente inferior comparándola con la del ácido ascórbico. También se ha observado que el extracto

acuoso de Stevia también tiene capacidad de inhibir el radical hidroxilo, el óxido nítrico y los radicales superóxido. A pesar de que los resultados obtenidos en este estudio indican claramente que la Stevia tiene un gran potencial para uso como un agente antioxidante natural, sus autores destacan que son necesarios más estudios para identificar las sustancias implicadas en estos efectos observados (Shukla *et al.*, 2011).

El contenido de polifenoles de las hojas de

Stevia, vinculados a su efecto antioxidante varía enormemente de acuerdo al método empleado en su determinación. Esto mismo sucede en el caso de otro tipo de antioxidantes que son los flavonoides (Shukla *et al.*, 2011). Sin embargo, cabe destacar que, a pesar de la presencia de estas sustancias antioxidantes en la hoja de la Stevia, el interés más destacable para el uso de la misma por su calidad y facilidad de empleo, está en su forma altamente purificada y no en la hoja como tal.

7. Estudios sobre su seguridad

7.1 Toxicidad oral aguda

Se ha observado toxicidad aguda en estudios con esteviósido con 96% de pureza a dosis mayores a 15 g/kg de peso en ratas, ratones y hamsters (Toskulkao, 1997). Teniendo en cuenta estos resultados, no hay preocupación con respecto a la toxicidad aguda de la Stevia (EFSA, 2010).

7.2 Toxicidad a corto plazo y subcrónica

Algunos de los estudios empleados por EFSA (The European Food Safety Authority), máxima autoridad europea en seguridad alimentaria, para establecer la seguridad de la Stevia se resumen en el **ANEXO 3**.

En algunos estudios de toxicidad subcrónica

y de reproducción en dos generaciones con el rebaudiósido A, la ganancia de peso fue ligeramente inferior en los grupos tratados en comparación con los controles (Curry & Roberts, 2008; Nikiforov & Eapen, 2008). En estos estudios también se registró una disminución en el consumo de alimento y en la eficiencia de conversión alimenticia. El Grupo de análisis de EFSA considera que estos efectos sobre el peso corporal como no adversos o no indicativos de toxicidad. Los mismos estarían relacionados con la baja palatabilidad y menor valor nutritivo de los piensos que contienen los glicósidos de esteviol de prueba (97% rebaudiósido A). Por lo tanto el parámetro de peso corporal no se considera como un criterio de valoración adecuado para el establecimiento de la NOAEL (no observable adverse effect level: dosis a la que

no se observan efectos adversos) para estos estudios. En consecuencia, el Grupo evaluador de la EFSA considera que la Stevia administrada en la dieta de las ratas no produjo efectos adversos en los estudios subcrónicos a dosis de hasta 4,6 g / kg peso corporal / día que fueron las dosis máximas probadas.

7.3 Estudios de genotoxicidad

En general, el esteviosido y el rebaudiósido A no muestran evidencia de genotoxicidad in vitro o in vivo. A pesar de que un ensayo informó sobre efectos indicativos de daño en el ADN (Nunes *et al.*, 2007), el Grupo evaluador de EFSA considera que este estudio no proporciona pruebas sustentables de un potencial genotóxico del esteviosido, teniendo en cuenta las limitaciones metodológicas de este estudio y teniendo en cuenta también el hecho de que no se observaron resultados similares en estudios previos en roedores utilizando steviosidos de pureza superior o inferior (Sasaki *et al.*, 2002; Sekighashi *et al.*, 2002). Los estudios de daño en el ADN y la formación de micronúcleos en ratas, ratones y hamsters han demostrado que la genotoxicidad del esteviol no se expresa in vivo a dosis de hasta 8000 mg / kg de peso corporal. Dado que los datos disponibles indican que los toxicocinéticos del esteviol libre están ausentes en la circulación sistémica en humanos o en el peor de los casos están presentes en niveles muy bajos (insignificantes), la genotoxicidad in vitro del esteviol no se expresa in vivo.

7.4 Toxicidad crónica y carcinogénesis

El único estudio de toxicidad crónica y

carcinogenicidad considerado en la evaluación del esteviosido por el grupo de expertos de JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) fue reportado por Toyoda *et al.* (1997). El esteviosido (95,6% de pureza) se administró a ratas F344 (50 animales / sexo / grupo) en las concentraciones alimentarias de 0 (control), 2,5 y 5% durante 104 semanas. Estas dosis corresponden a la dieta de aproximadamente 0, 1,25 y 2,5 g de esteviosido / kg peso corporal / día. Al final del período de estudio, todas las ratas supervivientes recibieron la dieta control durante 4 semanas y fueron sacrificados en la semana 108. En los machos, los hallazgos más frecuentes fueron los tumores de testículos, seguido por tumores de la tiroides, las glándulas suprarrenales, sistema hematopoyético, glándulas mamarias y la pituitaria. En las hembras, tumores de la hipófisis, el sistema hematopoyético, útero y las glándulas mamarias (Toyoda *et al.*, 1997). El NOAEL se basó en este estudio a 2 años de carcinogenicidad en ratas alimentadas con un 2,5% de esteviosido (95,6% de pureza) y fue igual a 967 mg de esteviosido / kg peso corporal / día correspondientes a aproximadamente 388 mg equivalentes de esteviol / kg peso corporal / día).

7.5 Estudios de fertilidad y teratogénesis

Una de las preocupaciones sobre los efectos teratogénicos y de antifertilidad del esteviosido se planteó después de observar que la Stevia producía una disminución de la tasa de nacidos vivos en ratas (Planas y Kuc, 1968), sin embargo estos resultados no pudieron ser replicados en investigaciones posteriores (Shiotsu, 1996). Un número de

estudios ha demostrado que el estevióside administrado oralmente, no tiene ningún efecto sobre la fertilidad en ratones (Chatsudthipong & Muanprasat, 2009). Las ratas alimentadas con alimentos que contienen hasta un 1% de estevióside (por kg de peso), no evidencian cambios en la proliferación de células intersticiales o espermatogénesis. Sin embargo, cuando son alimentadas con dosis inusualmente alta (2,6 g / día) por 2 meses las ratas manifiestan una disminución de la fecundidad. Esto podría deberse a componentes minoritarios que en altas dosis podrían tener efecto tóxico (Chatsudthipong & Muanprasat, 2009).

Como el desarrollo de embriones de pollo es sensible a las sustancias tóxicas, la teratogenicidad de estevióside y el esteviol fue probado en estos animales (Geuns *et al.*, 2003). Tras la inyección de estevióside y esteviol en los huevos, el desarrollo embrionario fue normal, sin observarse disminución del peso corporal de la cría de embriones ni

aumento de la mortalidad o deformaciones estructurales.

Por otra parte, el estevióside oral, no tiene efectos adversos sobre la fertilidad, el apareamiento o el estado de preñez en las camadas de ratas y hámster. Sin embargo, la toxicidad en los hámster embarazadas y sus embriones se desarrolla después de la administración oral de esteviol a dosis superiores a 500 mg / kg de peso corporal. La cantidad de este esteviol es equivalente a la dosis de estevióside de 1250 mg / kg de peso corporal, que es mucho mayor que la Ingesta Diaria Admitida (IDA) (4 mg / kg de peso corporal).

En conjunto, la mayoría de los estudios están de acuerdo en que el estevióside oral, en el nivel de ingesta diaria admisible (4 mg / kg de peso corporal), es seguro y no tiene efectos teratogénicos (Chatsudthipong & Muanprasat, 2009).

8. Ingesta diaria admitida (IDA)

La Stevia está aprobada para el uso en alimentos y bebidas en varios países del mundo, entre ellos Japón, Corea, Australia, Rusia, Malasia, Indonesia, Suiza, Francia, México, Brasil y los Estados Unidos. En diciembre de 2008, la FDA de EE. UU. autorizó su uso como edulcorante natural en alimentos y bebidas, clasificándolo como sustancia GRAS: generally recognized as

safe: generalmente reconocida como segura.

El Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios de la Organización Mundial de la Salud/Organización de Agricultura y Alimentos (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives -JECFA-) revisó la Ingesta Diaria Admisible (IDA) consecutivamente en

los años 2000, 2005, 2006, 2007, 2009 y 2010. Estableciendo en la última revisión un valor de 4 mg por kg de peso corporal por día para la Stevia.

La Comisión Técnica de Aditivos Alimentarios y Fuentes de Nutrientes de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. (The European Food Safety Authority's scientific Panel on additives, the ANS Panel - EFSA-) evaluaron la seguridad de los glicósidos de esteviol. Tras diversas pruebas toxicológicas demostraron que estas sustancias no son genotóxicas ni carcinogénicas, ni están vinculadas a efectos adversos sobre el sistema reproductivo humano o para el desarrollo del niño, siendo aprobada para su uso en alimentos y bebidas por este organismo en Noviembre de 2011. El Grupo estableció una Ingesta Diaria Admisible (IDA) de 4 mg por kg de peso corporal por día para la Stevia, nivel en consonancia con la ya establecida por JECFA.

Esta cantidad fue establecida sobre la base de la aplicación de un factor de incertidumbre de 100 veces a la NOAEL (No observable adverse effect level) en el estudio de carcinogenicidad de 2 años en la rata de 2,5% esteviósido en la dieta. Esto es igual a 967 mg de esteviósido / kg peso / día, equivalente a 16,6 mg / kg peso corporal / día para una persona de 60 kg (que corresponde a aproximadamente 330 mg equivalentes de esteviol / kg peso corporal / día) valores bien tolerados.

Para los efectos de comparación de los límites de admisión y de seguridad, todos los compuestos activos del esteviósido deben convertirse en esteviol equivalentes (Tabla 3). Basándose en sus pesos moleculares relativos, las cantidades de esteviósido y de

rebaudiósido A deben multiplicarse por 0,40 y 0,33, respectivamente, para convertirse en esteviol equivalentes. Así basándose en la IDA establecida por JECFA y EFSA de 4 mg por kg de peso corporal por día de esteviol equivalentes, esto equivaldría a 12 mg/kg peso/día para rebaudiósido A.

Edulcorante	Factor de conversión
Esteviol	1,00
Esteviósido	0,40
Rebaudiósido A	0,33
Reaudiósido C	0,34
Dulcósido A	0,40
Rubusosido	0,50
Esteviolbiosido	0,50

Tabla 3: Conversión de los compuestos activos del esteviósido en esteviol equivalentes. Modificado de EFSA, 2010.

Teniendo en cuenta una IDA de 12 mg/kg peso/día para rebaudiósido A, una persona de 60 kg podría consumir unos 50 sobres por día y un niño de 25 kg, 21 sobres/día de Truvia® sin con ello llegar a superar la ingesta diaria admitida.

9. Anexos

ANEXO I: Resumen de estudios revisados sobre el efecto antihipertensivo y cardiovascular de la Stevia

Autor	Tipo de estudio	Acción observada	Efecto observado
Melis MS & Braz <i>J Med Biol Res.</i> 1996; 29(5), 669–675.	Ratas normales e hipertensas	La administración de un extracto de Stevia a dosis de 2,67 g de hoja seca / día durante 30 días por vía oral produjo una reducción significativa de la presión arterial media en ratas normotensas e hipertensas.	Reducción presión +
Chan P <i>et al.</i> <i>Br. J. Clin. Pharmacol.</i> 2000; 50, 215–220	Ratas hipertensas y humanos	La administración por vía intravenosa de 95% de esteviósido puro (con una dosis de 50, 100 o 200 mg / kg de peso corporal) producía un efecto hipotensor significativo en forma espontánea en ratas hipertensas sin ningún efecto adverso sobre la frecuencia cardíaca o los niveles séricos de catecolaminas. En otro estudio realizado por el mismo grupo en seres humanos, el esteviósido se administró a una dosis de 250 mg tres veces al día durante 1 año a 60 voluntarios hipertensos, el estudio reveló que después de 3 meses la presión arterial sistólica y diastólica disminuyó significativamente y el efecto también mostró ser persistente sin observar efectos negativos en los parámetros bioquímicos, por lo tanto, los investigadores concluyeron que el esteviósido es bien tolerado y resulta un compuesto eficaz que puede ser considerado como una alternativa o complemento a fármacos para pacientes con hipertensión.	Reducción presión +
Lee CN, <i>et al.</i> <i>Planta Med.</i> 2001; 67, 796–799.	Ratas hipertensas	El estudio reveló que la inyección intraperitoneal de esteviósido (25 mg / kg) causó efecto antihipertensivo. Según estos autores el esteviósido tendría un efecto antihipertensivo al generar vasodilatación por una inhibición del reflujo de Ca ²⁺ en el vaso sanguíneo.	Reducción presión +
Jeppesen PB, <i>et al.</i> <i>Metabolism.</i> 2003; 52(3), 372–378.	Ratas diabéticas	Después de administrar una dosis oral repetida de esteviósido de 25 mg / kg peso corporal / día durante 6 semanas redujo la presión sanguínea en las ratas.	Reducción presión +

Autor	Tipo de estudio	Acción observada	Efecto observado
Hsieh MH, <i>et al.</i> Clin Ther. 2003; 25(11), 2797–280.	Humanos	Estudios de hasta 2 años con una dosis de esteviosido de 1500 mg / día mostraron que el esteviosido disminuye significativamente tanto la presión arterial sistólica como diastólica, sin ningún tipo de cambios en el índice de masa corporal, la bioquímica y el índice de masa ventricular izquierda. Además, se observó que la calidad de vida en general había mejorado con el tratamiento con esteviosido en comparación con el placebo. Los investigadores concluyeron que a largo plazo la ingesta oral del esteviosido era bien tolerada y puede ser considerado como una alternativa o un complemento para pacientes hipertensos.	Reducción presión +
Wong KL, <i>et al.</i> Life Sci. 2004; 74, 2379–2387	Ratas Wistar	Estudiaron el papel de los canales de potasio en el efecto vasodilatador de isoesteviol, derivado de la Stevia. Los investigadores demostraron que la vasodilatación inducida por isoesteviol se relacionaba con la apertura de los canales KATP y SKCa.	Reducción presión +
Ferri LA, <i>et al.</i> Phytother Res 2006; 20(9), 732–736.	Humanos hipertensos	La administración oral por 6 semanas de una mezcla cruda de esteviosido / rebaudiosido A (15 mg / kg peso corporal / día) para pacientes con hipertensión esencial leve no produjo cambios significativos en la presión arterial. Esto podría ser consecuencia de unos niveles basales de presión arterial inferiores, junto con las diferencias en la frecuencia de la ingesta diaria y la duración de la ingesta del esteviosido en comparación con estudios anteriores. Otra posibilidad podría ser la pureza o la composición de la mezcla de esteviosido / rebaudiosido lo cual puede interferir con el efecto de esteviosido. No obstante, no fueron observados efectos clínicos adversos.	Reducción presión -
Cavalcante da Silva GE <i>et al.</i> Brazilian Archives of Biology and Technology. 2006; 49, 583-587.	Humanos hiperlipémicos	49 sujetos hiperlipidémicos hombres y mujeres recibieron 200 mg por día de un extracto de Stevia (hojas 70% de esteviosido, un 20% rebaudiosido A, 2% otros rebaudiosidos) o cápsulas placebo en 4 dosis iguales dos veces al día (es decir, tomaron 2 cápsulas en el almuerzo y 2 cápsulas tomadas en la cena) durante 90 días. Se observaron disminuciones estadísticamente significativas en el colesterol total y colesterol LDL tanto con el esteviosido como en el grupo placebo en comparación con los valores basales. Los autores concluyeron que estas disminuciones fueron compatibles con una modificación en los estilos de vida de los sujetos y no con un efecto del extracto.	No efecto sobre perfil lipídico
Geuns JMC, <i>et al.</i> Exp Biol Med. 2007; 232(1), 164–173.	Humanos con presión arterial normal	En este estudio también se ha demostrado que la administración oral del esteviosido (750 mg / día) durante 3 días no produjo ningún cambio significativo en la presión arterial media en sujetos con presión arterial normal. La ingesta oral de esteviosido crudo resultó segura y bien tolerada.	Reducción presión -

Autor	Tipo de estudio	Acción observada	Efecto observado
Maki KC, <i>et al.</i> Food Chem Toxicol . 2008; 46(7 Suppl 1), S47–53.	Humanos con presión arterial normal y normal-baja.	El consumo de 1000 mg de rebaudiósido A por 4 semanas no alteró significativamente la frecuencia cardíaca en personas adultas sanas con presión arterial normal y normal-baja. La cantidad ingerida de rebaudiósido A en este estudio fue unas 10 veces mayor que el que se consume como un edulcorante.	No efecto sobre la presión
Barriocanal LA <i>et al.</i> Regul Toxicol Pharmacol. 2008; 51(1):37-41.	Humanos	Estos autores han informado que el esteviósido usado a largo plazo consumiendo 250 mg 3 veces / día durante 3 meses, en una cantidad similar a la que es utilizada como edulcorante, no tiene ningún efecto farmacológico en los pacientes diabéticos tipo 1 y tipo 2, así como en los individuos normotensos e hipotensos. La falta de efecto sobre la glucosa en la sangre o la presión arterial del esteviósido no se conoce, pero estos autores señalan que el esteviósido parecería tener la capacidad de reducir la glucosa y la presión arterial sólo cuando estos parámetros se encuentran anormalmente elevados.	Reducción presión -

ANEXO 2: Resumen de estudios revisados sobre la actividad anti-inflamatoria y antitumoral de la Stevia

Autor	Tipo de estudio	Acción observada	Efecto observado
Wasuntarawat C. Drug Chem Toxicol. 1998; 21(2):207-22	Ratas	La administración oral de 96,6% de esteviósido puro a una dosis de 2,5% y 5% evita la carcinogenicidad en ratas Fischer. El efecto anti-cancerígeno del esteviósido fue apoyada por varios otros estudios (Nunesa APM, <i>et al.</i> Food Chem Toxicol. 2007, 45, 662-666; Tosulkao C. Drug Chem Toxicol. 1997, 20, 31-44; Xili L. Toxicol. 1992, 30, 957-965.)	Efecto anti-cancerígeno
Yasukawa K, <i>et al.</i> Biol Pharm Bull. 2002 Nov;25(11): 1488-90.	Ratones	Se informó el efecto inhibitorio del esteviósido en la promoción de tumores por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) en la carcinogénesis en dos etapas en la piel de ratones. Este autor encontró que Stevia tiene una fuerte actividad inhibitoria contra la inflamación inducida por TPA en ratones. Los efectos inhibitorios de estos compuestos fueron comparados con agentes antitumorales promotores de quercetina y medicamentos anti-inflamatorios como la indometacina e hidrocortisona. El tratamiento con una mezcla de esteviósido de 0,1 mg y 1,0 mg causó el 73% y 96% de reducciones, respectivamente, en el número promedio de tumores / ratón.	Efecto anti-cancerígeno
Boonkaewwan C <i>et al.</i> J Agric Food Chem. 2008 May 28;56(10): 3777-84	In vitro células tumorales humanas	Examinaron los efectos del esteviósidos en líneas celulares de carcinoma de colon humano. El esteviol a concentraciones de 0,01 a 0,2 mM suprimía la liberación de TNF- α inducido por IL-8 de manera significativa en las tres líneas celulares estudiadas.	Efecto inmunomodulador
Sehar I <i>et al.</i> Chem Biol Interact. 2008 May 28;173(2): 115-21	Ratas	La actividad inmunomoduladora del esteviósido ha sido recientemente demostrada en este estudio in vivo. El esteviósido administrado en distintas dosis a ratas (6.25, 12.5 y 25 mg/kg peso corporal) promovió la función de fagocitosis demostrado por un incremento de la inmunidad humoral. Experimentos in vitro también demostraron el efecto estimulante del esteviósido en la actividad fagocítica y en la proliferación de células B y T. Estos resultados apoyan la hipótesis de que la consumición oral del esteviósido puede ser útil en la promoción de la inmunidad contra la infección por microorganismos.	Efecto inmunomodulador
Takasaki et al. Bioorg Med Chem. 2009 Jan 15; 17(2):600-5.	Piel de ratón	Encontraron que el esteviósido y agliconas de esteviol exhibían fuertes efectos inhibitorios en una prueba de carcinogénesis en dos etapas en piel de ratón inducidos por 7,12-dimetilbenzantraceno (DMBA) y 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA).	Efecto anti-cancerígeno

ANEXO 3: Estudios sobre toxicidad a corto plazo y subcrónica de la Stevia

Autor	Tipo de estudio	Acción observada	Efecto observado
Aze <i>et al.</i> Bulletin of the National Institute of Agricultural	Ratas	La administración oral de 96,6% de esteviósido puro a una dosis de 2,5% y 5% evita la carcinogenicidad en ratas Fischer. El efecto anti-cancerígeno del esteviósido fue apoyada por varios otros estudios (Nunesa APM, <i>et al.</i> Food Chem Toxicol. 2007, 45, 662-666; Toskulkao C. Drug Chem Toxicol. 1997, 20, 31-44; Xili L. Toxicol. 1992, 30, 957-965.)	Efecto anti-cancerígeno
Sciences. 1991; 48-54	Ratas	Se administró a ratas Fischer 344 esteviósido (95,6% de pureza) en concentraciones alimentarias de 0, 0,31, 0,62, 1,25, 2,5, o el 5% (equivalente a 0, 155, 310, 625, 1250, y 2500 mg / kg de peso corporal / día) durante 90 días. No se produjeron muertes durante el tratamiento y no hubo diferencias estadísticamente significativas en el aumento de peso corporal o el control de la ingesta de alimentos y de los tratados, entre los grupos. Sin embargo, los pesos corporales fueron estadística y significativamente diferentes y los niveles de urea (BUN) y Lactato deshidrogenasa (LDH) aumentaron. Se estableció como NOAL 2500 mg/kg peso/día.	No efectos tóxicos a altas dosis
Curry L & Roberts A. Food and Chemical Toxicology. 2008; 46 (7), S11-S20.	Ratas	Se administró esteviol (97% rebaudiósido A) a ratas Wistar, en concentraciones de hasta 100.000 mg / kg de dieta durante 4 semanas y en concentraciones de 0, 12.500, 25.000 o 50.000 mg / kg dieta en un estudio de toxicidad a 90 días. No hubo muertes ni signos clínicos de toxicidad, ni alteraciones en los parámetros bioquímicos analizados. No se describieron hallazgos patológicos relacionados con el tratamiento a excepción de los efectos sobre la reducción del peso corporal, o el consumo y la eficiencia de conversión del alimento. Se estableció como NOAL 9938 y 11.728 mg/kg peso/día para ratas masculinas y femeninas, respectivamente.	No efectos tóxicos a altas dosis

10. Puntos clave

- Alimentarse correctamente es una preocupación cada día más extendida. Muchas personas vienen demostrando su interés en seguir una alimentación equilibrada, basada en productos naturales, no tanto como una forma para recuperar una salud quebrantada sino más bien como un medio natural y sencillo de alcanzar el bienestar personal.
- Los edulcorantes son toda sustancia química capaz de proporcionar sabor dulce al alimento que la contiene.
- La Stevia es una planta subtropical (un pequeño arbusto perenne) de la familia de las asteráceas que se cultiva actualmente en todo el mundo, pero principalmente en China, Paraguay, Colombia, India, Kenya y Brasil.
- Las hojas de la Stevia contienen varios compuestos glicósidos que son los que otorgan el sabor dulce. El género Stevia incluye más de 200 especies, sin embargo, sólo dos de ellas contienen glicósidos de esteviol, siendo la Stevia rebaudiana Bertonii la variedad que contiene los compuestos más dulces.
- El rebaudiósido A es de 250 a 450 veces más dulce si se compara con la sacarosa, siendo el de mayor poder endulzante de todos los glicósidos de estas hojas.
- El jugo gástrico y las enzimas digestivas no pueden degradar el esteviósido, actividad que realizan las bacterias del colon. Sin embargo, el esteviósido y el rebaudiósido A no influyen significativamente en la composición de la microflora intestinal humana.
- El esteviol parece ser el principal metabolito del esteviósido que aparece en la circulación sanguínea después de la ingestión oral. En hígado se une al ácido glucurónico formando glucurónido de esteviol. Las vías urinarias y biliares parecen ser las principales vías para la excreción del glucurónido de esteviol.
- El esteviósido no influye en la absorción de otros nutrientes esenciales como aminoácidos, vitaminas, minerales, etc.
- Los glicósidos constituyentes de la Stevia tienden a producir un sabor dulce menos instantáneo e inmediato que la sacarosa, pero su sabor se prolonga por un largo período. De los glicósidos de la Stevia, el Rebaudiósido A además de poseer un dulzor más pronunciado tiene un mejor perfil de palatabilidad.
- Rebaudiósido A es estable durante al menos dos años a temperatura ambiente y bajo condiciones de humedad controladas y a un pH variable de 3 a 9.

- La Stevia es un endulzante natural y sin calorías que permite contribuir a una reducción del aporte energético de la dieta, manteniendo el placer y la satisfacción al comer. Por otro lado, el consumo de Stevia no afecta el nivel de ingesta de la comida siguiente ya que tras su administración a adultos normopeso o con sobrepeso, ambos informaron niveles similares de hambre y saciedad, y no aumentaron su ingesta calórica en la siguiente comida.
- Los glicósidos de la Stevia representan una buena opción para endulzar para los diabéticos ya que aporta dulzor sin calorías y sólo una pequeña cantidad es necesaria para endulzar. Además no induce respuesta glucémica tras su ingesta.
- Los estudios realizados respecto a la acción antihiper glucémica y antihipertensiva de la Stevia arrojan resultados contradictorios, debido a las diferencias metodológicas, a que se realizaron con diferentes glicósidos de esteviol y que se realizaron con distintas poblaciones (ratas y sujetos diabéticos e hipertensos o normales). En todo caso sus efectos pueden considerarse positivos o neutros.
- El esteviósido puede ser útil en el tratamiento de la diarrea que resulta por enfermedades infecciosas intestinales e hiper motilidad, sin embargo, son necesarios más estudios al respecto.
- Existe amplia evidencia de que el esteviósido tiene un efecto antiinflamatorio y anticancerígeno a través de estudios tanto in vitro como in vivo.
- La Stevia ha demostrado no tener potencial de riesgo para desarrollar caries dental. Esto tendría especial interés en personas con elevada tendencia a la caries dental o cuando se consumen determinados fármacos que aumentan la susceptibilidad a su desarrollo.
- A pesar de la presencia de sustancias antioxidantes en la hoja de la Stevia, su forma altamente purificada en estas no estarían presentes.
- La Comisión Técnica de Aditivos Alimentarios y Fuentes de Nutrientes de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. (The European Food Safety Authority's scientific Panel on additives, the ANS Panel - EFSA-) evaluaron la seguridad de los glicósidos de esteviol. Tras diversas pruebas toxicológicas demostraron que estas sustancias no son genotóxicas ni carcinogénicas, ni están vinculadas a efectos adversos sobre el sistema reproductivo humano o para el desarrollo del niño siendo aprobada para su uso en alimentos y bebidas por este organismo en Noviembre de 2011. El Grupo estableció una Ingesta Diaria Admisible (IDA) de 4 mg por kg de peso corporal por día para la Stevia, nivel en consonancia con la ya establecida por JECFA.

1. Bibliografía

- Abudula R**, Jeppesen PB, Rolfsen SED, Xiao J, Hermansen K. Rebaudioside A potently stimulates insulin secretion from isolated mouse islets: studies on the dose, glucose, and calcium-dependency. *Metabolism*. 2004; 53(10):1378-1381.
- Agencia Española de Seguridad Alimentaria (AESAN)**. Estrategia NAOS. Invertir la tendencia de la obesidad. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo; 2005.
- Anton SD**, Martin CK, Han H, Coulon S, Cefalu WT, Geiselman P, Williamson DA. Effects of Stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite*. 2010; 55(1):37-43.
- Aranceta Bartrina J**, Moreno Esteban B, Moya M, Anadón A. Prevention of overweight and obesity from a public health perspective. *Nutr Rev*. 2009;67(Suppl 1):S83-8.
- Aranceta Bartrina J**, Serra Majem LI, Foz Sala M, Moreno Esteban B. Prevalencia de obesidad en España. *Med Clin (Barc)*. 2005;125(12):460-466.
- Barriocanal LA**, Palacios M, Benitez G, Benitez S, Jimenez JT, Jimenez N, *et al*. Apparent lack of pharmacological effect of esteviol glycosides used as sweeteners in humans. A pilot study of repeated exposures in some normotensive and hypotensive individuals and in Type 1 and Type 2 diabetics. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2008;51(1):37-41.
- Bastos A**, González R, Molinero O, Salguero A. Obesity, nutrition and physical activity. *Rev Int Med Cienc Act Fis Deporte*. 2005;5(18):140-153.
- Binder HJ**. Pathophysiology of acute diarrhea. *Am J Med*. 1990; 88(6A):2S-4S.
- Boeckh EMA**, Humboldt G. Efeitos cardiocirculatorios do extrato aquoso total em indivíduos normais e do esteviosídeo em ratos. *Cienc Cult*. 1981;32:208-210.
- Brahmachari G**, Mandal LC, Roy R, Mondal S, Brahmachari AK. Stevioside and related compounds - molecules of pharmaceutical promise: a critical overview. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2011;344(1):5-19.
- Brandle JE**, Starratt AN, Gijzen M. Stevia rebaudiana: Its agricultural, biological, and chemical properties. *Can J Plant Sci*. 1998;78:527-36.
- Branca F**, Nikogosian H, Lobstein T, editores. The challenge of obesity in the WHO European Region and the strategies for response. Copenhagen: WHO; 2007.
- Carakostas MC**, Curry LL, Boileau AC, Brusick DJ. Overview: the history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring esteviol glycoside, for use in food and beverages. *Food Chem*

Toxicol. 2008;46(Suppl 7):S1-S10.

Chatsudthipong V, Muanprasat C. Stevioside and related compounds: therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacol Ther.* 2009;121(1):41-54.

Chen TH, Chen SC, Chan P, Chu YL, Yang HY, Cheng, JT. Mechanism of the hypoglycemic effect of stevioside, a glycoside of *Stevia rebaudiana*. *Planta Méd.* 2005;71(2):108-113.

Costa-Font J, Gil J. Obesity and the incidence of chronic diseases in Spain: a seemingly unrelated probit approach. *Econ Hum Biol.* 2005;3(2):188-214.

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),771-774.

Curry L and Roberts A. Subchronic toxicity of rebaudioside A. *Food and Chemical Toxicology.* 2008 46(7), S11-S20.

Das S, Das AK, Murphy RA, Punwani IC, Nasution MP, Kinghorn AD. Evaluation of the cariogenic potential of the intense natural sweeteners stevioside and rebaudioside A. *Caries Res.* 1992;26(5):363-6.

Devasagayam TPA, Tilak JC, Bloor KK, Sane KS, Ghaskadbi S, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India.* 2004;52:794-804.

Dyrskog SE, Jeppesen PB, Colombo M, Abudula R, Hermansen, K. Preventive effects of a soy-based diet supplemented

with stevioside on the development of the metabolic syndrome and type 2 diabetes in Zucker diabetic fatty rats. *Metabolism.* 2005; 54(9):1181-1188.

Elmadfa I, Freisling H. Nutritional status in Europe: methods and results. *Nutr Rev.* 2009;67(Suppl 1):S130-4.

European Food Safety Authority (EFSA). Parma, Italy. Scientific Opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a food additive. *EFSA Journal.* 2010;8(4):1537.

Farré-Rovira R, Barberá Sáez R, Lagarda Blanch MJ. Aditivos alimentarios. En: Gil A (ed). *Tratado de Nutrición. Tomo II. Composición y calidad nutritiva de los alimentos.* Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2010. p. 431-451.

Ferreira EB, de Assis Rocha Neves F, da Costa MA, do Prado WA, de Araújo Funari Ferri L, Bazotte RB. Comparative effects of *Stevia rebaudiana* leaves and stevioside on glycaemia and hepatic gluconeogenesis. *Planta Med.* 2006;72(8):691-696.

Formiguera X, Cantón A. Obesity: epidemiology and clinical aspects. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2004;18(6):1125-46.

Gardana C, Simonetti P, Canzi, E, Zanchi R, Pietta, P. Metabolism of stevioside and rebaudioside A from *Stevia rebaudiana* extracts by human microflora. *J Agric Food Chem.* 2003;51(22):6618-6622.

Geeraert B, Crombé F, Hulsmans M, Benhabilès N, Geuns JM, Holvoet P. Stevioside inhibits atherosclerosis by

- improving insulin signaling and antioxidant defense in obese insulin-resistant mice. *Int J Obes*. 2010;34:569-577.
- Geuns JM**, Bruggeman V, Buyse JG. Effect of stevioside and esteviol on the developing broiler embryos. *J Agric Food Chem*. 2003; 51(17):5162-5167.
- Geuns JM**. Stevioside. *Phytochemistry*. 2003;64(5):913-921.
- Geuns JMC**, Buys J, Vankeirsbilck A, Temme E HM. Metabolism of stevioside by healthy subjects. *Exp Biol Med*. 2007; 232(1):164-173.
- Gnacińska M**, Małgorzewicz S, Stojek M, Łysiak-Szydłowska W, Sworczak K. Role of adipokines in complications related to obesity: a review. *Adv Med Sci*. 2009;54(2):150-157.
- Goodson JM**, *et al*. Effect of a Truvia® Rebiana on the pH of Dental Plaque. Abstract presented at the International Association for Dental Research General Sessions, Barcelona, July 2010.
- Goyal SK**, Samsheer, Goyal RK. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. *Int J Food Sci Nutr*. 2010;61(1):1-10
- Greenwood JL**, Stanford JB. Preventing or improving obesity by addressing specific eating patterns. *J Am Board Fam Med*. 2008; 21(2):135-40. Available from: <http://www.jabfm.org>.
- Gregersen S**, Jeppesen PB, Holst JJ, Hermansen K. Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism*. 2004; 53(1):73-76.
- Gutiérrez-Fisac JL**, Guallar-Castillón P, León-Muñoz LM, Graciani A, Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F. Prevalence of general and abdominal obesity in the adult population of Spain, 2008-2010: the ENRICA study. *Obes Rev*. 2011 Dec 12. doi: 10.1111/j.1467-789X.2011.00964.x. [Epub ahead of print]
- Humboldt G**, Boech EM. Efeito do edulcorante natural (stevioside) e sintético (sacarina) sobre o ritmo cardíaco em ratos. *Arq Bras Cardiol*. 1977; 30:257-277.
- Hutapea AM**, Toskulkao C, Buddhasukh D, Wilairat P, Glinsukon, T. Digestion of stevioside, a natural sweetener, by various digestive enzymes. *J Clin Biochem Nutr*. 1997;23(3):177-186.
- JECFA, 2005**. Esteviol glycosides. In: 63rd Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland, WHO Technical Report Series 928, pp. 34-39 and 138 <http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_928.pdf>.
- 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.
- Jeppesen PB**, Gregersen S, Poulsen CR, Hermansen K. Stevioside acts directly on pancreatic cells to secrete insulin: actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitive K⁺-channel activity. *Metabolism*. 2000; 49(2):208-214.

- Jéquier E**, Tappy L. Regulation of body weight in humans. *Physiol Rev.* 1999;79(2):451-80.
- Kautiainen S, Koivusilta L, Lintonen T, Virtanen SM, Rimpelä A. Use of information and communication technology and prevalence of overweight and obesity among adolescents. *Int J Obes (Lond).* 2005;29(8):925-33.
- Khan LK**, Sobush K, Keener D, Goodman K, Lowry A, Kakietek J, *et al.* Recommended community strategies and measurements to prevent obesity in the United States. *MMWR Recomm Rep.* 2009;58(RR-7):1-26.
- Kimm YS**, Glynn W, Obarzanek E, Kriska M, Daniels R, Barton A, Liu K. Relation between the changes in physical activity and body mass index during adolescence: A multicentre longitudinal study. *The Lancet.* 2005;366:301-307.
- Kinghorn AD**, Kaneda N, Baek NI, Kennelly EJ, Soejarto DD. Noncariogenic intense natural sweeteners. *Med Res Rev.* 1998;18(5):347-60.
- Kinghorn AD**, Soejarto D.D. Intensely sweet compounds of natural origin. *Med Res Rev.* 1989;9:91-115.
- Kinghorn AD & Soejarto DD.** Discovery of terpenoid and phenolic sweeteners from plants. *Pure Appl Chem.* 2002;74(7):1169-1179.
- Koyama E**, Sakai N, Ohori Y, Kitazawa K, Izawa O, Kakegawa K, Fujino A, Ui M. Absorption and metabolism of glycosidic sweeteners of *Stevia* mixture and their aglycone, esteviol, in rats and humans. *Food Chem Toxicol.* 2003;41(6):875-83.
- Maki KC**, Curry LL, Reeves MS, Toth PD, McKenney JM, Farmer MV, *et al.* Chronic consumption of rebaudioside A, a steviol glycoside, in men and women with type 2 diabetes mellitus. *Food Chem Toxicol.* 2008; 46(Suppl 7):S47-53.
- Martínez-González MA**, Varo JJ, Santos JL, Irala J de, Gibney M, Kearney J. Prevalence of physical activity during leisure time in the Europe Union. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;31:1121-1131.
- Matsukubo T**, Takazoe I. Sucrose substitutes and their role in caries prevention. *Int Dent J.* 2006; 56(3):119-30.
- Melis MS**, Sainati AR. Effect of calcium and verapamil on renal function of rats during treatment with stevioside. *J Ethnopharmacol.* 1991; 33(3):257-262.
- Melis MS.** Chronic administration of aqueous extract of *Stevia rebaudiana* in rats: renal effects. *J Ethnopharmacol.* 1995; 47(3):129-134.
- Molnar D, Livingstone B.** Physical activity in relation to overweight and obesity in children and adolescent. *Eur J Pediatr.* 2000; 159(Suppl1):45-55.
- Moreno Aliaga MJ**, Lorente Cebrián S, Pérez Echarri N, Martínez Hernández JÁ. Visfatina, apelina y nuevas moléculas del síndrome metabólico. *Rev Esp Obesidad.* 2008;6(4):205-214.
- Nikiforov AI and Eapen AK.** A 90-day oral (dietary) toxicity study of rebaudioside A in Sprague-Dawley rats. *International Journal of Toxicology* 2008; 27(1): 65-80.

- Nordentoft I**, Jeppesen PB, Hong J, Abudula R, Hermansen K. Isoesteviol increases insulin sensitivity and changes gene expression of key insulin regulatory genes and transcription factors in islets of the diabetic KKAY mouse. *Diabetes Obes Metab.* 2008; 10(10):939-949.
- Nunes APM**, Ferreira-Machado SC, Nunes RM, Dantas FJS, De Mattos JCP and Caldeira-de-Araújo A. Analysis of genotoxic potentiality of stevioside by comet assay. *Food and Chemical Toxicology.* 2007; 45:662-666.
- Parsons TJ, Power C, Manor O.** Physical activity, television viewing and body mass index: a cross-sectional analysis from childhood to adulthood in the 1958 British cohort. *Int J Obes Relat Metab Disord.* *Int J Obes (Lond).* 2005; 29(10):1212-21
- Petri WA**, Miller M, Binder HJ, Levine MM, Dillingham R, Guerrant RL. Enteric infections, diarrhea, and their impact on function and development. *J Clin Invest.* 2008; 118(4):1277-1290.
- Pezzuto JM**, Compadre CM, Swanson SM, Nanayakkara D, Kinghorn AD. Metabolically activated esteviol, the aglycone of stevioside, is mutagenic. *Proc. Natl. Acad Sci USA.* 1985; 82(8):2478-2482.
- Pinto Fontanillo JA**, Carbajal Azcona A. La dieta equilibrada, prudente o saludable. Madrid: Consejería de Sanidad, Instituto de Salud Pública; 2003.
- Planas GM** & Kuc, J. Contraceptive properties of Stevia rebaudiana. *Science.* 1968; 162(3857):1007.
- Prakash I**, Dubois GE, Clos JF, Wilkens KL, Fosdick LE. Development of rebiana, a natural, non-caloric sweetener. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(Suppl 7):S75-82.
- Prentice AM.** Obesity and its potential mechanistic bases. *Br Med J.* 2001;60:51-57.
- Redinger RN.** Is enhanced energy utilization the answer to prevention of excessive adiposity?. *J Ky Med Assoc.* 2009; 107(6):211-7.
- Roberts A**, Renwick AG. Comparative toxicokinetics and metabolism of rebaudioside A, stevioside, and esteviol in rats. *FoodChem.Toxicol.* 2008; 46(Suppl 7):S31-9.
- Russolillo G**, Astiasarán I, Martínez JA. Intervención dietética en la obesidad. Pamplona: EUNSA; 2003. p. 51-57.
- Sasaki YF**, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K and Tsuda S. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat Res.* 2002; 519(1-2):103-19.
- Sastre Gallego A.** Obesidad y complicaciones metabólicas. En: Gil Hernandez A, Serra Majem LI, coordinadores. El libro blanco del pan. Madrid: Médica Panamericana; 2009. p.125-141.
- Schelbert KB.** Comorbidities of obesity. *Prim Care.* 2009;36(2):271-85.
- Sekihashi K**, Saitoh H and Sasaki YF. Genotoxicity studies of Stevia extract and esteviol by the comet assay. *Journal of*

Toxicological Sciences. 2002; 27(Suppl 1):1-8.

Sharma AM, Chetty VT. Obesity, hypertension and insulin resistance. *Acta Diabetol*. 2005;42(Suppl 1):S3-8.

Shiotsu S. Fertility study of Stevia decoction in rats. *Tech J Food Chem. Chemicals*. 1996; 4:108-113.

Shiozak K, Fujii A, Nakano T, Yamaguchi T, Sato M. Inhibitory effects of hot water extract of the Stevia stem on the contractile response of the smooth muscle of the guinea pig ileum. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2006; 70(2):489-494.

Shukla S, Mehta A, Mehta P, Bajpai VK. Antioxidant ability and total phenolic content of aqueous leaf extract of Stevia rebaudiana Bert. *Exp Toxicol Pathol*. 2011 Mar 4. [Epub ahead of print]

Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiú E, Calle-Pascual A, Carmena R *et al*. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia*. 2012; 55(1):88-93.

Susuki H, Kasai T, Sumihara M. Effects of oral administration of stevioside on level of blood glucose and liver glycogen of intact rats. *Nippon Nogei Kagaku kaishi*. 1977; 51:171-173.

Tomita, T, Sato N, Arai T, Shiraishi H, Sato M, Takeuchi M., *et al*. Bactericidal activity of a fermented hot-water extract from Stevia rebaudiana Bertoni towards enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 and other food-borne pathogenic bacteria. *Microbiol Immunol*. 1997; 41(12):1005-1009.

Toskulkao C, Chaturat L, Temcharoen P and Glinsukon T. Acute toxicity of stevioside, a natural sweetener, and its metabolite, esteviol, in several animal species. *Drug and Chemical* 1997;20(1-2):31-44

Toskulkao C, Sutteerawattananon M, Piyachaturawat P. Inhibitory effect of esteviol, a metabolite of stevioside, on glucose absorption in everted hamster intestine in vitro. *Toxicol Lett*. 1995; 80(1-3):153-159.

Toyoda K, Matsui H, Shoda T, Uneyama C, Takada K and Takahashi M. Assessment of the carcinogenicity of stevioside in F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*. 1997; 35:597-603.

Ulbricht C, Isaac R, Milkin T, Poole EA, Rusie E, Grimes Serrano JM, Weissner W, Windsor RC, Woods J. An evidence-based systematic review of Stevia by the Natural Standard Research Collaboration. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2010; 8(2):113-27.

Valdes S, Rojo-Martinez G, Soriguer F. Evolution of prevalence of type 2 diabetes in adult Spanish population. *Med Clin (Barc)*. 2007; 129:352-355

Wheeler A, Boileau AC, Winkler PC, Compton JC, Prakash I, Jiang X, Mandarino DA. Pharmacokinetics of rebaudioside A and stevioside after single oral doses in healthy men. *Food Chem Toxicol*. 2008; 46(Suppl 7):S54-S60.

Wingard RE Jr, Brown JP, Enderlin FE, Dale JA, Hale RL, Seitz CT. Intestinal degradation and absorption of the glycosidic sweeteners stevioside and rebaudioside A. *Experientia*. 1980; 36(5):519-520.

Wölwer-Rieck U. The Leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertroni), Their Constituents and the Analyses Thereof: A Review. *J Agric Food Chem.* 2012; 60(4):886-95.

World Health Organization. InfoDatabase. 2005. [citado 8 Sep 2007]. Available from: <http://www.who.int/infobase/report.aspx?rid=112&ind=BMI&goButton=Go>

World Health Organization. Obesity and overweight. Geneva: WHO; 2008 [cited 2008 Oct 15]. Available from: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/facts/obesity/en>.

Wozniak SE, Gee LL, Wachtel MS, Frezza EE. Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. *Dig Dis Sci.* 2009; 54(9):1847-56.

Young ND, Wilkens K. Study of temporal profile of rebaudioside A, aspartame and sucrose in water at room temperature, Unpublished results. Atlanta, GA, USA: The Coca-Cola Company; 2007.



El endulzante 0 calorías  de la hoja de Stevia

Más info en www.truvia.com.es