
	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Zubirán Comité de Ética en Investigación/Comité de Investigación		Código:
			Rev. 1
	Solicitud de evaluación de protocolos de investigación		Hoja: 1 de 14

No. de registro CIIBH: UIE-2635-18-20-1

1. Título del proyecto				
Cambios en la sensibilidad a la insulina en hígado y músculo esquelético, microbiota intestinal y concentraciones postprandiales de GLP-1 provocados por el consumo de la sucralosa.				
2. Número y versión del protocolo (incluya la fecha de la versión)				
Versión 2, enero de 2020				
3. Tipo de investigación				
Tipo de investigación	Seleccione una opción			
Farmacológica				
Biomédica				
Epidemiológica				
Intercambiabilidad				
Otra	X			
4. Investigadores				
4a. Identificación				
INVESTIGADOR	Posición institucional	Posición en el proyecto	Teléfono (ext.)	Correo-E
Dra. Paloma Almeda Valdés	Médico especialista adscrita al Depto. de Endocrinología y Metabolismo	Investigadora Principal	54870900 (2407)	paloma.almedv@incmnsz.mx
Dr. Carlos A. Aguilar Salinas	Jefe de la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas	Co-Investigador	54870900	caguilersalinas@yahoo.com
M. en C. Alonso Romo Romo	Nutriólogo adscrito al Dpto. de Endocrinología y Metabolismo	Co-Investigador	54870900 (2407)	alonso_romo@hotmail.com
Dra. Nimbe Torres y Torres	Investigadora del Depto. de Fisiología de la Nutrición	Co-Investigador	54870900 (2801)	nimbester@gmail.com
M. en C. Griselda X. Brito Córdova	Coordinadora de Nutriología del Dpto. de Endocrinología y Metabolismo	Co-Investigador	54870900 (2407)	grisbrito@hotmail.com
M.A. Guadalupe López Carrasco	Química adscrita al Depto. De Endocrinología y Metabolismo	Co-investigador	54870900 (2407)	guloca@hotmail.com
4b. Pertinencia del grupo de investigadores con respecto del proyecto				
Investigador	Pertenencia al SNI	Experiencia en estudios de investigación		
Dra. Paloma Almeda Valdés	Nivel II	Sí		

Dr. Carlos A. Aguilar Salinas	Nivel III	Sí
M. en C. Alonso Romo Romo	NO	Sí
Dra. Nimbe Torres y Torres	Nivel III	Sí
M. en C. Griselda X. Brito Córdova	NO	Sí
M.A. Guadalupe López Carrasco	NO	Sí

5. Instituciones participantes

Institución (Razón social y dirección)	Papel que cumplirá en el proyecto	Otorgó aprobación al proyecto?
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Vasco de Quiroga No. 15, Colonia Belisario Domínguez Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P. 14080, CDMX.	Sitio de reclutamiento de participantes y realización de las visitas del estudio, además del análisis de las muestras sanguíneas y de heces.	Sí.

6. Patrocinio

6a. Organismos patrocinadores

Ninguno.

6b. Especificar si los investigadores reciben pago (monetario o en especie) por su participación específica en la investigación.

No.

7. Resumen (Límite 400 palabras)

Este ensayo clínico aleatorizado triple ciego tiene como finalidad el conocer los mecanismos fisiopatológicos a través de los cuáles la sucralosa, un edulcorante no nutritivo (ENN), genera alteraciones en el metabolismo de la glucosa. Esta investigación determinará si la disminución en la sensibilidad a la insulina, descrita en estudios recientes, es a nivel hepático o de músculo esquelético. Se investigará si en humanos la sucralosa genera una disbiosis en la microbiota intestinal que pudiera estar relacionada con cambios en la sensibilidad a la insulina, además de los cambios en las concentraciones de lipopolisacárido, una toxina presente en las bacterias Gram-negativas que actúa como un marcador inflamatorio. Finalmente, se investigará si existe un aumento en la liberación postprandial de GLP-1 debido a la combinación de sucralosa con un desayuno mixto en nutrientes lo cual también permitirá entender de manera global los efectos deletéreos de esta sustancia en personas sanas.

8. Antecedentes

Respecto a los efectos de la sucralosa en el metabolismo de la glucosa se han realizado al menos trece ensayos clínicos en donde han evaluado sus efectos en distintas variables relacionadas como las concentraciones de glucosa, insulina, incretinas, hemoglobina glucosilada (HbA1c), péptido-C, glucagón, sensibilidad a la insulina, función de la célula beta, depuración de insulina e índice insulínogénico. De estos ensayos clínicos mencionados, solamente cuatro han encontrado cambios estadísticamente significativos producidos por la sucralosa en uno o varios de los desenlaces considerados.

Brown, et al. [2012] (1) realizó un estudio cruzado en personas jóvenes de 12 a 25 años de edad divididos en tres grupos: 9 con diabetes mellitus tipo 1 (DM1), 10 con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y 25 sujetos sanos en el grupo control. Se les realizaron dos pruebas de tolerancia oral a la glucosa (CTOG) de 3 horas con carga de 75 g en distintas ocasiones. En una de las visitas consumían agua carbonatada antes de la curva y en la otra visita consumían un refresco de dieta que contenía sucralosa y acesulfame-K (no se especificaron las cantidades). En los resultados del estudio ante el consumo de los ENN se obtuvo un área bajo la curva (AUC por sus siglas en inglés) 43% mayor ($p=0.02$) de GLP-1 (péptido similar al glucagón tipo 1) en los participantes con DM1 y 34% mayor ($p=0.029$) en el grupo control. No se observaron diferencias significativas en las concentraciones de glucosa, péptido-C, GIP (péptido insulínotrópico dependiente de glucosa) y PYY (péptido tirosina tirosina).

Pepino, et al. [2013] (2) realizó otro ensayo clínico aleatorizado cruzado en 17 sujetos con obesidad mórbida que tenían una media del índice de masa corporal (IMC) de 42.3 ± 1.6 kg/m² y que además no consumían habitualmente productos con ENN. Se les realizaron CTOG de 5 horas con carga de 75 g en dos ocasiones separadas por 7 días, consumiendo en una de ellas 60 ml de agua simple 10 minutos antes de iniciar la curva y en otra de las visitas consumieron los 60 ml de

agua simple con 48 mg de sucralosa. Se encontraron concentraciones más altas de glucosa, insulina y péptido-C en varios tiempos durante la curva ($p < 0.004$) ante el consumo de sucralosa vs agua. También se observó una disminución del $23 \pm 20\%$ ($p = 0.01$) en la sensibilidad a la insulina y una reducción del $7 \pm 4\%$ ($p = 0.04$) en la depuración de insulina cuando los participantes consumieron la sucralosa. No hubo cambios en GLP-1, GIP, glucagón y respuesta pancreática. Temizkan, et al. [2015] (3) encontró resultados similares a los estudios anteriores, realizando un pequeño ensayo cruzado en dos grupos: el primero consistía en 8 sujetos con recién diagnóstico de DM2, sin tratamiento farmacológico y con edad promedio de 51.5 ± 9.2 años; el segundo grupo estaba conformado por 8 sujetos sanos con edad promedio de 45.0 ± 4.1 años. Se les realizaron CTOG de 2 horas con carga de 75 g en 3 ocasiones consumiendo en cada visita de manera aleatoria 15 minutos antes de iniciar la prueba: 200 ml de agua simple o agregando 24 mg de sucralosa o 72 mg de aspartame. El consumo de sucralosa generó en los participantes sanos menor AUC de glucosa ($p = 0.002$) y mayor AUC de GLP-1 ($p = 0.04$). No se encontraron cambios significativos en insulina y péptido-C para el grupo de los sanos ni en ninguna variable para el grupo de DM2.

Recientemente nuestro grupo de investigación sobre ENN realizó un ensayo clínico aleatorizado paralelo [2018] (4) en donde se incluyeron sujetos jóvenes con IMC normal de 18 a 55 años de edad, que no tuvieran diabetes ni prediabetes y que tenían un consumo habitual bajo de productos con ENN. El estudio consistió en evaluar en un grupo ($n = 30$) los cambios producidos por el consumo del 15% de la ingesta diaria admisible (IDA) de sucralosa durante 14 días en la sensibilidad a la insulina, la respuesta pancreática, la efectividad de la glucosa, el índice de disposición (función de la célula beta) y las concentraciones plasmáticas en ayuno de hormonas reguladoras del apetito (GLP-1, PYY, leptina y ghrelina) en comparación con el grupo control ($n = 31$) al que se le realizaron las mismas pruebas y seguimiento pero no recibió intervención alguna. Las variables relacionadas con el metabolismo de la glucosa se midieron mediante la prueba de tolerancia a la glucosa intravenosa con muestreo frecuente modificada (FSIVGTT por sus siglas en inglés) basada en el modelo mínimo diseñado por Richard Bergman. Ambos grupos recibieron las mismas instrucciones de no modificar su peso ni sus hábitos de alimentación y ejercicio durante el periodo de intervención. En los resultados se encontró que el consumo de sucralosa disminuyó de forma significativa la sensibilidad a la insulina de $5.8 [4.4-7.6]$ a $4.9 [3.4-6.7]$ [$\mu\text{U/L} \cdot \text{min}^{-1}$] ($p < 0.01$), mientras que en el grupo control no se encontraron cambios estadísticamente significativos ($p = 0.65$). El porcentaje de cambio en este parámetro también fue significativamente diferente entre los grupos, ya que ante el consumo de sucralosa la sensibilidad a la insulina disminuyó a razón de un 17.7% y en el grupo control solamente disminuyó 2.8% ($p = 0.04$). Cuando se excluyeron del análisis a los participantes que no cumplieron con los criterios de adecuada adherencia a la intervención ($n = 3$) se encontró que la respuesta pancreática se incrementaba significativamente en el grupo que consumió la sucralosa de $577 [350-1040]$ a $671 [376-1010]$ [$\mu\text{U.L}^{-1} \cdot \text{min}$] ($p = 0.04$), sin embargo, el porcentaje de cambio en este parámetro no alcanzó a ser estadísticamente diferente entre los grupos ($p = 0.16$). No se encontraron cambios en las concentraciones plasmáticas en ayuno de las hormonas reguladoras del apetito.

Adicional a los efectos en el metabolismo de la glucosa, Medina et al. demostraron que algunos azúcares o edulcorantes incluida la glucosa y la sucralosa, pueden actuar como moduladores alostéricos positivos del CaSR, lo que aumenta la sensibilidad del receptor a los iones de calcio [2]. El efecto de la sucralosa en el receptor sensor de calcio (CaSR) podría ser relevante para la membrana apical del túbulo contorneado distal (TCD) debido al alto consumo de productos con contenido de sucralosa, la cual se filtra en su 100% por lo que pasa por el TCD. Este fenómeno toma relevancia en el consumo de bebidas endulzadas con sucralosa debido a su intenso sabor dulce. Es probable que este mecanismo de modulación de los azúcares en el fluido tubular del TCD tenga un efecto alostérico sobre el CaSR lo cual activaría al cotransportador renal de Na-Cl (NCC).

9. Definición del problema

El consumo de sucralosa en la población está avalado por diversos organismos e instituciones a nivel internacional y la prevalencia de su consumo es elevada al estar presente en una gran variedad de alimentos, suplementos alimenticios, medicamentos y productos de higiene personal.

Los ensayos clínicos más recientemente publicados indican que el consumo de sucralosa genera efectos metabólicos en el organismo relacionados con la tolerancia a la glucosa y/o la efectividad en la acción de la insulina. Se han propuesto algunos mecanismos por los que la sucralosa pudiera interferir en las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina, sin embargo, los estudios que sugieren estos mecanismos de acción han sido basados en pruebas in vitro o en modelos animales.

Se requiere confirmar en humanos los resultados encontrados en estos estudios y conocer más ampliamente los mecanismos por los que la sucralosa genera una disminución en la sensibilidad a la insulina. La confirmación de este efecto y la identificación de sus mecanismos permitirán reconsiderar la seguridad del consumo de este ENN.

10. Justificación

Los estudios que han evaluado cambios en la sensibilidad con métodos de medición más completos que los índices simples (concentraciones de glucosa e insulina en ayuno, HOMA-IR, etc.) han encontrado una disminución significativa de la sensibilidad a la insulina.

Se requiere más evidencia científica que sustente los nuevos hallazgos relacionados con los efectos de la sucralosa en el metabolismo de la glucosa. Actualmente no existen estudios en humanos que hayan cuantificado los cambios en la sensibilidad a la insulina ante el consumo de sucralosa con el clamp euglicémico hiperinsulinémico, que es el estándar de oro para evaluar este parámetro. No se ha utilizado la infusión de isotopos estables para conocer si esta resistencia a la insulina se genera a nivel hepático o periférico.

Es necesario evaluar el efecto de la sucralosa en las concentraciones de GLP-1 ante el consumo de un alimento mixto en nutrientes para comprobar que se incrementan las concentraciones postprandiales de esta hormona cuando se combina este ENN con la ingesta de hidratos de carbono en el tracto gastrointestinal.

Finalmente, la alteración en la microbiota intestinal producida ante la ingesta de sucralosa ha sido solamente evaluada en ratas y no ha sido posible describir una disbiosis característica en los humanos a causa de este ENN. Se propone realizar procedimientos estandarizados que permitirán conocer y confirmar los efectos y mecanismos fisiopatológicos atribuidos a la sucralosa por los cuales genera una disminución en la sensibilidad a la insulina.

11. Hipótesis

El consumo del 30% de la IDA de sucralosa durante 30 días disminuye en un 15% el estado de sensibilidad a la insulina en el hígado o en el músculo esquelético en comparación con el placebo.

12. Objetivos.

Objetivo principal

Estimar los cambios en el estado de sensibilidad a la insulina en hígado y músculo esquelético provocados por el consumo del 30% de la IDA de sucralosa durante 30 días en comparación con el placebo.

Objetivos Específicos.

1. Determinar el cambio en la sensibilidad a la insulina hepática ante la ingesta de sucralosa en comparación con el placebo.
2. Determinar el cambio en la sensibilidad a la insulina en músculo esquelético ante la ingesta de sucralosa en comparación con el placebo.

Objetivos Secundarios.

1. Determinar los cambios en la microbiota intestinal (géneros y especies de bacterias) producidos por la ingesta de sucralosa en comparación con el placebo.
2. Determinar los cambios en las concentraciones plasmáticas postprandiales de glucosa, insulina y GLP-1 ante la ingesta de sucralosa en comparación con el placebo.
3. Explorar los efectos secundarios reportados ante el consumo de sucralosa en comparación con el placebo.
4. Determinar el cambio en las concentraciones de lipopolisacárido ante la ingesta de sucralosa en comparación con el placebo.
5. Evaluar la expresión y fosforilación del NCC en exosomas urinarios (EU) en voluntarios sanos previo y posterior a la ingesta de sucralosa durante 30 días.

13. Metodología: Diseño general.

Ensayo clínico aleatorizado triple ciego paralelo.

El estudio se registrará en la base de datos internacional de ClinicalTrials.gov

14. Temporalidad del estudio.

Tipo de estudio	Seleccione una opción
Retrospectivo	
Prospectivo	X

15. Proceso de asignación de los grupos en estudio			
Maniobra	Si (Incluya la información correspondiente)	No	No aplica
Aleatorización	Se realizará la aleatorización en bloques balanceados diseñando diferentes combinaciones de los tratamientos en bloques de 6 sujetos [4 bloques para el total de 24 participantes] y asignando el orden en que se presentarán dichos bloques a través la página randomization.com por una persona externa a la investigación).		
Estudio abierto		X	
Estudio ciego simple		X	
Estudio doble ciego		X	
Estudio triple ciego	Tanto participantes, investigadores y personas responsables del análisis estadístico estarán cegados ante la intervención recibida.		
16. Descripción de las maniobras o las intervenciones			
El estudio consistirá en seis visitas:			
a) Visita 1: se corroborará que los participantes cumplan con todos los criterios de selección, se explicará y leerá el documento del consentimiento informado para obtener la aceptación y firma del participante. Se llevarán a cabo los siguientes procedimientos en esta visita:			
<ul style="list-style-type: none"> Recolección de datos generales. Toma de mediciones antropométricas (peso, talla, perímetro de cadera) mediante la técnica de ISAK [International Society for the Advancement of Kinanthropometry] y para la circunferencia de cintura de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana 043 [NOM-043-SSA2-2012]. Registro de signos vitales: presión arterial y frecuencia cardiaca con baumanómetro digital automático de brazo. CTOG (curva de tolerancia oral a la glucosa) con carga de 75 g y duración de dos horas para descartar la presencia de diabetes o prediabetes. Se recabará el cuestionario de actividad física de la Universidad de Laval y GPAQ (Global Physical Activity Questionnaire, validado por la OMS). Se realizará un examen de composición corporal a través de DXA (absorciometría con rayos X de doble energía). Se recolectará un recordatorio de alimentación de 24 horas. Aplicación del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos adaptado a productos del mercado mexicano que contienen ENN para verificar que los participantes cumplen con los criterios establecidos como “bajo consumo de ENN”. 			
b) Visita 2: se llevará a cabo el primer clamp euglucémico hiperinsulinémico con trazadores que consiste de manera general en:			
<ul style="list-style-type: none"> Administración de una solución que contiene trazadores con isótopos estables marcados de glucosa [6,6-2H₂]. La administración de los isótopos se realizará de forma continua (0.25 µmol/kg/min) durante 3 horas. Fase 1 del clamp: para determinar la sensibilidad a la insulina hepática, durante estas tres horas la infusión de los isótopos se reducirá al 50% y se iniciará la administración de solución glucosada al 20% enriquecida al 2.5% con glucosa [6,6-2H₂]. También se iniciará la infusión de insulina rápida a una velocidad de 7 mU/m² ASC (Área de Superficie Corporal)/min (comenzando con una dosis de 28 mU/m² ASC/min durante 5 minutos y posteriormente a 14 mU/m² ASC/min). Fase 2 del clamp: para determinar la sensibilidad a la insulina en el músculo esquelético, durante las siguientes tres horas la infusión de los isótopos se suspenderá y se continuará con la administración de solución glucosada al 20% enriquecida al 2.5% con glucosa [6,6-2H₂]. La infusión de insulina rápida se incrementará a una velocidad de 50 mU/m² ASC/min (comenzando con una dosis de 200 mU/m² ASC/min durante 5 minutos y posteriormente a 100 mU/m² ASC/min). 			

- c) Visita 3:
- Se entregará la muestra basal de heces y orina
 - Se realizará la primera curva con desayuno mixto, en el cual el participante deberá ingerir 10 minutos antes de iniciar la curva una cápsula de acuerdo al grupo que se le haya asignado y posteriormente se tomarán muestras sanguíneas en los tiempos 0, 30, 60, 90 y 120 minutos para medición de glucosa, insulina y GLP-1. El desayuno proporcionado tendrá las siguientes características: 523 Kcal, aportando 63.8 g de hidratos de carbono (49%), 21.8 g de proteína (17%) y 19.9 g de lípidos (34%), 28% de las calorías totales del desayuno corresponden a azúcares. El menú consistirá en:
 - o 250 ml de leche deslactosada light Alpura®
 - o 30 g de queso panela Fud®
 - o 36 g de pechuga de pavo Swan®
 - o 2 rebanadas de pan de caja blanco Bimbo®
 - o 10 g de mayonesa McCormick®
 - o 200 ml de jugo de naranja Jumex®
 - Al finalizar la prueba, se entregarán las cápsulas correspondientes para los 30±2 días del periodo de intervención y se darán indicaciones de no modificar sus hábitos de alimentación y actividad física, así como de no consumir otros productos con ENN.
 - Se les pedirá que durante la intervención se llenen 2 registros de consumo de alimentos de 3 días (2 días entre semana y 1 en fin de semana); además de un formato de apego a la intervención, en donde registrarán la ingesta diaria de cápsulas y síntomas y/o efectos secundarios relacionados al consumo de las cápsulas.
- d) Visita 4: se realizará el segundo clamp euglucémico hiperinsulinémico con trazadores, tal y como se describió en la visita 2. Además se valorará el apego a la ingesta de las cápsulas y los cambios que pudieran haber existido en el periodo de intervención en el peso corporal, actividad física y hábitos dietéticos. También se recolectará la muestra final de heces y de orina.
- e) Visita 5: se realizará la segunda curva con desayuno mixto, tal y como se describió en la visita 2 para valorar cambios en las concentraciones postprandiales de glucosa, insulina y GLP-1.
- f) Visita 6: se recolectará una muestra de sangre en ayuno para la medición de glucosa, insulina y perfil de lípidos. También se recolectará un registro de alimentos de 3 días y se aplicará nuevamente el cuestionario de actividad física de Laval.

17.Tratamientos (si aplica) (incluya una tabla para cada medicamento en estudio)

Medicamento 1	Incluya la información correspondiente	No	No aplica
Nombre	No se utilizará ningún fármaco, la intervención en el grupo de tratamiento será un aditivo alimentario: sucralosa aislada.		
¿Cumple con "Buenas prácticas de fabricación"?	Sí, se obtendrá la sucralosa a través de la empresa Tate & Lyle®, proveedor global de ingredientes y soluciones en la industria de alimentos y bebidas.		
Códigos, etiquetado, almacenamiento, retención y resguardo de las muestras de medicamento	Se almacenará el aditivo alimentario en condiciones que no lo expongan a humedad o temperaturas extremas para mantenerlo en condiciones adecuadas y se etiquetará apropiadamente el recipiente para identificar el contenido del mismo.		
Forma farmacéutica	La sucralosa se obtendrá en polvo pero se encapsulará en la farmacia del Instituto para administrarse de la misma forma que el placebo (cápsulas rellenas almidón de maíz). Los investigadores serán ajenos a este procedimiento, por lo que sólo recibirán las cápsulas de ambos grupos en frascos idénticos.		

Dosis	Se indicará el 30% de la ingesta diaria admisible de sucralosa establecida por el JECFA (Comité de expertos en aditivos alimentarios de la FAO y la OMS), que es de 15 mg/kg/día para cada sujeto. Para el grupo control se indicará la misma cantidad pero consistirá en almidón de maíz.		
Intervalo de administración	Diario, en tres ocasiones al día, antes de cada comida (desayuno, comida y cena).		
Vía de administración	Oral en cápsulas.		
Velocidad de administración	NA		
Duración del tratamiento	30 días.		

18. Seguimiento

	Incluya la información correspondiente	No	No aplica
Número de fases del estudio	Una.		
Número de visitas y su programación (incluya los horarios)	<p>En total habrá 6 visitas en el estudio:</p> <p>-Visita 1: si citará a los participantes a las 7 u 8 am con un ayuno de 8 a 12 horas y su duración será de aproximadamente dos horas.</p> <p>-Visita 2: con una separación de ≤ 1 semana de la visita 2, se citará a los participantes a las 7 am con un ayuno de 8 a 12 horas y su duración será de aproximadamente 9 horas.</p> <p>-Visita 3: con una separación ≤ 1 semana de la visita 1, se citará a los participantes a las 7 u 8 am con un ayuno de 8 a 12 horas y su duración será de aproximadamente tres horas.</p> <p>-Visita 4: con una separación de 30 ± 2 días de la visita 3, se citará a los participantes a las 7 am con un ayuno de 8 a 12 horas y su duración será de aproximadamente 9 horas.</p> <p>-Visita 5: con una separación ≤ 3 días de la visita 4, se citará a los participantes a las 7 u 8 am con un ayuno de 8 a 12 horas y su duración será de aproximadamente dos horas.</p> <p>-Visita 6: con una separación de 30 días de la visita 5, se citará a los participantes a las 8 am con ayuno de 8 a 12 horas y su duración será de aproximadamente 30 minutos.</p>		
Duración de cada fase del estudio	Al existir una sola fase, se estima una duración aproximada de un año y medio para el reclutamiento y seguimiento de todos los participantes.		
Estudios de laboratorio y gabinete que serán usados	<p>Visita 1: CTOG 2 horas (medición de glucosa a los 0 y 120 minutos, además de perfil de lípidos en ayuno).</p> <p>Visita 2: medición de las concentraciones de glucosa al iniciar cada fase del clamp y cada 10 minutos para modificar la infusión de glucosa y mantener una glucemia entre 95-105 mg/dL. Durante los últimos 30 minutos de cada fase se medirá glucosa e insulina cada 10 minutos.</p> <p>Visita 3: medición de las concentraciones de glucosa, insulina y GLP-1 a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos después de un desayuno mixto.</p> <p>Visita 4: medición de las concentraciones de glucosa al iniciar cada fase del clamp y cada 10 minutos para modificar la infusión de glucosa y mantener una glucemia entre 95-105 mg/dL. Durante los últimos 30 minutos de cada fase se medirá glucosa e insulina cada 10 minutos.</p>		

	Visita 5: medición de las concentraciones de glucosa, insulina y GLP-1 a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos después de un desayuno mixto. Visita 6: medición de las concentraciones de glucosa, insulina y perfil de lípidos en ayuno.		
Duración total del seguimiento	Considerando todas las visitas, se estima que el tiempo de seguimiento de un participante será máximo de 11 semanas.		
Métodos de muestreo	Por ser un ensayo clínico aleatorizado se tendrá un muestreo no probabilístico por conveniencia.		
Opciones de tratamiento que se ofrecerán al término del estudio	NA.		

19. Manejo de sobredosis

En el estudio será mínima la posibilidad de que se exceda la IDA (ingesta diaria admisible) de sucralosa debido a que se indicará la cantidad de cápsulas necesaria para ingerir solo el 30% de la IDA y se dará la instrucción de no consumir otros productos que contengan ENN durante el periodo de intervención.

20. Terapia de rescate

No aplica.

21. Terapias concomitantes permitidas

No aplica.

22. Terapias concomitantes prohibidas

No aplica.

23. Definición de las variables de seguimiento

- Sensibilidad a la insulina: efectividad de la acción de la insulina para la disminución de los niveles de glucosa sanguínea. Se medirá a través del clamp euglucémico hiperinsulinémico con trazadores para determinar sensibilidad a la insulina en hígado y en músculo esquelético.
- Microbiota intestinal: ecosistema bacteriano complejo que alberga en el tubo digestivo. Se medirá a través de la secuenciación por síntesis del ARN ribosomal del gen 16s y posteriormente se determinarán género y especie de las bacterias encontradas en los participantes antes y después de la intervención.
- GLP-1: hormona producida en las células enteroendocrinas L responsable de estimular en el páncreas aproximadamente el 50% de la secreción de insulina postprandial. Se medirá a través de técnica inmunológica por láser con equipo Millipore.
- Lipopolisacárido: también llamado endotoxina, es el mayor componente de la membrana externa de las bacterias Gram-negativas que desempeña una importante función en la activación del sistema inmune al constituir el antígeno superficial más importante de este tipo de bacterias. Se determinará mediante un método enzimático inmunológico ELISA con kits comerciales.
- Efectos secundarios: cualquier respuesta nociva o no intencionada que se asocia al consumo de un medicamento o producto. Se evaluará mediante cuestionario de apego a la intervención en donde reportarán día con día síntomas relacionados al consumo de las cápsulas.
- Consumo bajo de ENN: se establece como criterio de inclusión al estudio refiriéndose a una baja ingesta de manera habitual a productos que contienen cualquier tipo de ENN. Se debe cumplir con lo siguiente: consumo máximo de una combinación de 5 productos o porciones de alimentos y bebidas con ENN a la semana sin exceder en los límites de consumo por semana establecidos para cada categoría de productos que son las siguientes:
 - Sustitutos de azúcar: ≤ 3 sobres
 - Bebidas light (refrescos, té, jugos): ≤ 1 lata (355 ml)
 - Yogurt light: ≤ 1 vaso (semisólido) o 1 bote (para beber)
 - Gelatinas: ≤ 1 taza (250 ml)
 - Chicles o pastillas sin azúcar: ≤ 5 piezas

<ul style="list-style-type: none"> ○ Saborizantes de agua en polvo: ≤ 2 tazas (500 ml) ○ Otros productos light (avena instantánea, mermelada, galletas, dulces, granola, miel, etc.): ≤ 3 porciones <ul style="list-style-type: none"> • Actividad física: cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que exija gasto de energía. Se medirá antes y después de la intervención para valorar modificaciones durante el estudio mediante dos cuestionarios: Laval y GPAQ. • Dieta: Consumo de alimentos y bebidas que tiene una persona en un día y que acostumbra de manera normal. Se medirá mediante registros de consumo de alimentos de 3 días (2 días entre semana y 1 día en fin de semana) que se darán entre las visitas para que llenen los pacientes, además de los recordatorios de alimentación de 24 horas recolectados en cada visita. Toda la información recolectada sobre alimentación será analizada mediante el programa Food Processor Nutrition Analysis Software®.
24. Métodos que se usarán para la recolección de la información
<ul style="list-style-type: none"> • Hoja de recolección de datos (visita 1): para registrar datos generales como nombre, edad, sexo, fecha de nacimiento, folio, teléfono, correo electrónico, registro en el INCMNSZ si aplica, enfermedades importantes diagnosticadas o padecidas, medicamentos y/o suplementos que se consuman actualmente (especialmente el uso reciente de antibióticos) • Actividad física: cuestionario de la Universidad de Laval y GPAQ. • Alimentación: recordatorio de alimentación de 24 horas en cada visita y registros de consumo de alimentos de 3 días entre las visitas. • Apego y efectos secundarios: se les dará a ambos grupos un formato de apego a la intervención para que cada día durante el periodo de intervención (30 días) registren la cantidad de cápsulas ingeridas (horario y relación con los alimentos), además de los síntomas inusuales experimentados en relación al consumo de las cápsulas. • Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos adaptado a productos del mercado mexicano que contienen ENN: para valorar bajo consumo habitual de ENN. • Expediente del participante: se vaciarán toda la información recolectada durante las visitas (mediciones antropométricas, tensión arterial y frecuencia cardíaca, resultados de estudios de laboratorio, resultados del DXA, resultados de las concentraciones postprandiales de glucosa, insulina y GLP-1 en visitas 2 y 5, etc.). • Todos los datos se irán vaciando a la par a una base de datos en el programa SPSS® (Statistical Package for the Social Sciences) para Windows®, versión 21.0; además de los registros que se tengan en físico.
25. Procedimiento de monitoreo y auditorías durante el desarrollo del estudio
<p>Se mantendrá contacto vía telefónica con los participantes en los siguientes momentos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Antes de cada visita para recordarle fecha y hora de la misma (visita 2, 3, 4 y 5). • A la mitad del periodo de intervención (día 15), para saber cómo se encuentra y corroborar que se estén siguiendo las indicaciones tal y cómo se explicaron.
26. Criterios de falla y de éxito
<p>Se considerará como éxito a los participantes que acudan a las 5 visitas del estudio, y como falla (pérdidas de seguimiento) a los participantes que no concluyan las 5 visitas.</p> <p>Se establecerán dos criterios de apego a la intervención:</p> <p>-Cumplimiento: $\geq 80\%$ en cuanto al consumo total de cápsulas.</p> <p>-Persistencia: ≥ 25 días en cuanto a los días en que fueron consumidas las cápsulas durante el periodo de intervención.</p>
27. Tamaño de muestra (por favor incluya la fórmula empleada para el cálculo y la fuente de información en que se fundamentaron los supuestos)
<p>Se estimó el tamaño de muestra con la fórmula de diferencia de medias en base a la delta encontrada en la sensibilidad a la insulina en el estudio de Romo-Romo y cols. (4) que fue del 15%, ya que ambos estudios se asemejan en metodología y desenlaces evaluados. La media y desviación estándar se obtuvieron de los estudios de Conte, et al. (5) y Fabbrini, et al. (6) que evaluaron sensibilidad a la insulina mediante clamp con trazadores en población normopeso. En la fórmula se utilizó un error α de 0.05, un poder del 90% y se añadió un 20% al tamaño de muestra para probables pérdidas durante el seguimiento.</p>

$$n = \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 * S2}{d^2} \rightarrow \frac{2(1.96 + 1.28)^2 * (1.7)^2}{(2.445)^2} \rightarrow 10.1 + 20\% = 12.1 \approx 12$$

Por lo tanto se reclutarán a 12 sujetos en cada grupo (control e intervención).

28. Descripción de las técnicas, aparatos y/o instrumentos que se utilizarán en la medición (Incluidos: equipos mecánicos, electrónicos, cibernéticos especiales)

- a) Centrífuga marca Beckman Coulter modelo SPINCHRON R Centrifuge.
- b) Equipo automatizado Unicel DxC 600 Synchron Clinical System marca Beckman Coulter en cual se realizará la medición de glucosa y el perfil de lípidos (triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL).
- c) Equipo automatizado Beckman Coulter Access 2 para la medición de insulina.
- d) Equipo de absorciometría con rayos X de doble energía marca General Electric® modelo Lunar Prodigy Advance con instalación del software Encore 16.10.
- e) Laboratorio para clamps: habitación con camilla eléctrica, bomba de infusiones marca MEDIMA, analizador de glucosa marca YSI modelo 2900, caja caliente, microcentrífuga marca Eppendorf modelo 5415 D.
- f) Congelador para el almacenamiento de las muestras correspondientes a la medición de GLP-1 a -20°C.
- g) Ultracongelador para el almacenamiento de las muestras de reserva a -80°C.
- h) Instalación de los programas SPSS® y Food Processor Nutrition Analysis Software® necesarios para la obtención y el análisis de los resultados de la investigación.
- i) Báscula mecánica con estadímetro marca SECA® modelo 700 con capacidad de 220 kg y precisión de 50 g para el peso corporal y un alcance de medición de 60 a 200 cm para la estatura.
- j) Cinta métrica metálica marca LUFKIN® Executive Thinline modelo W606PM con una extensión de 2 m.
- k) Baumanómetro digital automático de brazo marca OMRON® modelo HEM-781INT.
- l) Impresora y fotocopidora necesarias para la reproducción de los cuestionarios, resultados de laboratorio y formatos del protocolo.

29. Descripción de los formatos de evaluación, cuestionarios, tablas de cotejo, etc., señalando los criterios de validez, reproducibilidad y controles de calidad que se tengan de los mismos

- Actividad física: cuestionario de la Universidad de Laval [validado para población mexicana con un coeficiente de correlación intraclase de 0.86 para medición del gasto energético y además se considera una prueba sensible para detectar cambios ($p=0.01$)] y GPAQ [recomendado por la OMS, estableciendo como punto de corte ≥ 600 METS a la semana para considerar a una persona físicamente activa].
- Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos adaptado a productos del mercado mexicano que contienen ENN: para valorar bajo consumo habitual de ENN al ingresar al estudio. Se validó en un estudio previo en una población de pacientes con diabetes en México, teniendo validez de apariencia y de contenido, además de un coeficiente de correlación intraclase (CCI) de 0.94 [IC 95% 0.88-0.97; $p<0.001$] para la concordancia interobservador y un CCI de 0.82 [IC 95% 0.56-0.93, $p<0.001$] para la concordancia intraobservador.

30. ¿El protocolo implica el manejo y etiquetado de muestras biológicas? En caso de ser aplicable, mencione los procedimientos que se usarán

Se contará con los materiales necesarios para asegurar que los procedimientos de punción se llevarán adecuadamente y se mantendrán las condiciones de esterilidad en la extracción de las muestras. De igual forma, la manipulación y la conservación de las muestras hasta el momento de su análisis y el almacenamiento posterior se realizarán de acuerdo a las normas de bioseguridad establecidas en el INCMNSZ. El personal del laboratorio (químicas) realizará el análisis de glucosa e insulina en las muestras el mismo día de su obtención bajo procedimientos adecuadamente establecidos y con equipos automatizados. Las muestras obtenidas para la medición de GLP-1 serán almacenadas en condiciones apropiadas hasta el término del estudio para posteriormente medirse.

Por último, el etiquetado y codificación de las muestras será realizado cuidadosamente en todo momento y con los datos suficientes para el almacenamiento en las condiciones ideales (refrigeradores o ultracongeladores según se

requiera en cajas identificadas con los datos de la investigación). Se protegerá la confidencialidad de los participantes en todo momento.
31. Información correspondiente para asegurar que las muestras biológicas obtenidas no serán utilizadas para líneas celulares permanentes ni inmortales o fines no relacionados al estudio
Las muestras biológicas que se obtengan serán utilizadas solamente para los fines descritos en este proyecto y se especificará en el consentimiento informado.
32. Descripción de los grupos de tratamiento
<ul style="list-style-type: none"> Grupo de intervención: ingesta diaria durante 30 días del 30% de la IDA de sucralosa establecida por el JECFA (15 mg/kg/día) a través de cápsulas. Grupo control: se calculará la misma dosis pero las cápsulas contendrán placebo (almidón de maíz).
33. Mecanismos para la asignación de los tratamientos
<ul style="list-style-type: none"> Método de aleatorización: se realizará la aleatorización en bloques balanceados diseñando diferentes combinaciones de los tratamientos en bloques de 6 sujetos (4 bloques para el total de 24 participantes) y asignando el orden en que se presentarán dichos bloques a través la página randomization.com por un persona externa a la investigación. Método de ocultamiento de la asignación: sobres opacos sellados que indican el número de participante asignado consecutivamente y se entregaran al término de la primera visita cuando se conozca si el participante cumple con todas las características necesarias para ingresar al estudio y haya leído y firmado el consentimiento informado. Tipo de cegamiento: triple ciego. Método de enmascaramiento de la intervención: se utilizarán cápsulas hechas a base de gelatina que estarán rellenas de sucralosa aislada en el grupo de intervención y de almidón de maíz natural en el grupo control. Las cápsulas para ambos grupos tendrán la misma apariencia y color; será una intervención inodora e insabora ya que la disolución y absorción de las cápsulas es a nivel gástrico.
34. Si se emplea un grupo con placebo, incluya su justificación
Para que el estudio sea cegado y se pueda confirmar que los efectos encontrados se deban solamente a la ingesta de la sucralosa se proporcionarán cápsulas de placebo (almidón de maíz) con una dosis igual que la sucralosa (<0.5 g) que no generará efectos metabólicos en el organismo.
35. Criterios para el retiro prematuro del estudio
Que un participante asista solamente a la visita 1 (visita para corroborar cumplimiento de todos los criterios de inclusión y exclusión).
36. Procedimientos para el retiro de un paciente del estudio
Se podrá retirar a un participante del estudio cuando no asista a la visita 3 (medición basal del clamp euglucémico hiperinsulinémico con trazadores).
37. Criterios para la suspensión prematura (parcial o completa) del estudio
Encontrar alteraciones clínicamente significativas en el metabolismo de la glucosa después del seguimiento (glucosa en ayuno ≥ 100 mg/dL o glucosa a las dos horas después de un alimento mixto ≥ 140 mg/dL) en varios participantes.
38. Criterios de selección
a) Criterios de inclusión (Deberá incluir la definición de los grupos de edad, sexo y la severidad del padecimiento que serán permitidos en el estudio)
<ul style="list-style-type: none"> a) Ambos géneros. b) Tener de 20 a 45 años de edad. c) Tener un índice de masa corporal normal (≥ 18.5 y < 25 kg/m²). d) Presentar un bajo consumo de ENN.
b) Criterios de exclusión
a) Presentar cualquier tipo de diabetes o prediabetes.

- b) Tomar medicamentos que interfieran en la sensibilidad a la insulina como metformina, esteroides, terapia de reemplazo hormonal, anticonceptivos orales u otros que a criterio del investigador puedan interferir con el metabolismo de la glucosa.
- c) Haber pasado por un tratamiento con antibiótico en los últimos 3 meses.
- d) Consumir probióticos a través de formas farmacéuticas (cápsulas, polvo, solución, etc.) en los últimos 3 meses.
- e) Presentar algún tipo grave de afección intestinal como enfermedad inflamatoria intestinal, síndromes de malabsorción o resección intestinal.
- f) Presentar alguna enfermedad hepática o renal.
- g) Tener antecedente de cirugía bariátrica.
- h) Embarazo o lactancia.

c) Criterios de eliminación

Por ser un ensayo clínico aleatorizado no se podrán eliminar a los sujetos una vez que se haya realizado la medición basal de todas las variables de resultado. En caso de que un participante no asista a las visitas 4 y 5 (posterior a la intervención) se considerará una pérdida de seguimiento y deberá tomarse en cuenta en los resultados de la investigación.

39. Desenlaces y variables

- Desenlaces:
 - Sensibilidad a la insulina en hígado
 - Sensibilidad a la insulina en músculo esquelético
 - Concentraciones postprandiales de glucosa, insulina y GLP-1
 - Microbiota intestinal (géneros y especies de bacterias)
 - Concentraciones de lipopolisacárido
 - Efectos secundarios reportados por el consumo de sucralosa
 - Expresión y fosforilación del NCC en exosomas urinarios
- Otras variables descriptivas: edad, sexo, indicadores antropométricos y de composición corporal (peso, talla, circunferencia de cintura, circunferencia de cadera, masa magra, porcentaje de grasa), indicadores bioquímicos (glucosa, insulina, colesterol y triglicéridos), indicadores clínicos (presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, frecuencia cardíaca), nivel de actividad física, indicadores dietéticos (ingesta de energía, carbohidratos, proteínas, grasa y fibra).

40. Métodos que serán usados para ponerse en contacto con los pacientes

Vía telefónica, se proporcionará el teléfono del departamento de Endocrinología y Metabolismo del INCMNSZ (54870900 ext. 2405 y 2407), y el celular del investigador responsable del seguimiento de los participantes (M. en C. Alonso Romo Romo) para comunicar cualquier emergencia relacionada con el estudio.

41. Análisis estadístico (Descripción del plan de procesamiento y presentación de la información. Incluya la justificación de las pruebas estadísticas que serán usadas)

Los datos se recolectarán, almacenarán y analizarán en el paquete estadístico SPSS® (Statistical Package for the Social Sciences) para Windows®, versión 21.0.

Se analizará la distribución de las variables cuantitativas por grupo de estudio (intervención o control) con un tamaño de muestra de 12 sujetos por grupo y utilizando la prueba de Shapiro-Wilk. Se describirán las características basales por grupo de estudio expresadas en medias y desviaciones estándar para las variables con distribución normal y en medianas y rangos intercuartiles para las variables con libre distribución. Las variables cualitativas se describirán con frecuencias y porcentajes.

Para comparar las características basales entre los grupos se utilizará la prueba t-student para las variables paramétricas y U de Mann-Whitney para las no paramétricas. La comparación de las variables cualitativas se realizará con la prueba chi cuadrada o exacta de Fisher según sea apropiado.

En ambos grupos se hará tanto un análisis por protocolo considerando a los participantes con un apego adecuado y un análisis por intención a tratar considerando a todos los participantes.

Las diferencias entre la medición basal y final de las variables de desenlace por cada grupo de estudio se analizarán con la prueba t-pareada para las variables paramétricas o la prueba de Wilcoxon para las variables no paramétricas.

<p>Se calcularán los porcentajes de cambio para todas las variables de desenlace principales y se compararán las diferencias entre los grupos con las pruebas t-student o U de Mann-Whitney según corresponda.</p> <p>Las diferencias en las concentraciones postprandiales de GLP-1 se evaluarán entre los grupos mediante ANOVA de medidas repetidas tanto en la visita basal como el final. De igual forma se calculará el área bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés) para cada grupo y se comparará la medición basal vs final con t-pareda o Wilcoxon y con el porcentaje de cambio se evaluará la diferencia entre grupos con t-student o U de Mann-Whitney.</p> <p>La descripción de los efectos secundarios registrados por el consumo de las cápsulas se realizará mediante frecuencias y porcentajes, y se compararán las diferencias entre los grupos con chi cuadrada o prueba exacta de Fisher según sea lo apropiado.</p> <p>Se considerará como un hallazgo estadísticamente significativo cuando el valor de p sea menor a 0.05.</p>
42. Justificación del tamaño de muestra (incluya el poder del estudio y el valor de p que será considerado como significativo)
<p>En la fórmula se utilizó un error α de 0.05, un poder del 90% y se añadió un 20% al tamaño de muestra para probables pérdidas durante el seguimiento.</p> <p>Por lo tanto se reclutarán a 12 sujetos en cada grupo (control e intervención), teniendo una muestra total de 24 participantes.</p> <p>El clamp euglicémico hiperinsulinémico con trazadores es un método muy exacto para evaluar la sensibilidad a la insulina, por lo que da desviaciones estándar muy pequeñas y no se requiere un gran tamaño de muestra para detectar diferencias.</p>
43. Potencial de reclutamiento (número de sujetos que se pretende reclutar)
Se reclutarán a 24 participantes en total, aleatorizados a uno de los dos grupos (12 en cada grupo).
44. En caso de ser multicéntrico, incluya el número global y el número local de la muestra
No aplica.
45. Procedimientos para reportar desviaciones del plan estadístico original
En caso de que se modifique el plan estadístico propuesto originalmente, todos los investigadores deberán estar enterados y acceder a realizar dicho cambio; además se avisará de manera oportuna al Comité de Investigación y al Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ.
46. Molestias posibles resultantes del estudio
<p>Se pedirá a los participantes que acudan con un ayuno de 8 a 12 horas a todas las visitas del estudio, lo cual en ocasiones puede asociarse a mareo, malestar general y poco frecuentemente con desmayo.</p> <p>La realización de las pruebas, mediciones antropométricas y el llenado de cuestionarios implicará tiempo por parte de los participantes.</p> <p>Las diferentes pruebas requieren de la canalización de vías intravenosas (una en el caso de las visitas 1, 2 y 5; y dos en el caso de las visitas 3 y 4). Lo cual puede resultar doloroso para los participantes y en raras ocasiones asociarse a hematomas y sangrado.</p>
47. Riesgos potenciales
<p>Los riesgos de la toma de muestras sanguíneas son:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción 2) Mareo o sensación de desmayo 3) Raramente puede realizarse una punción arterial <p>No existe ningún riesgo potencial por el consumo de sucralosa, puesto que se proporcionará una cantidad dentro de los límites de seguridad establecidos por las organizaciones internacionales.</p>
48. Métodos de detección de riesgos anticipados
Explicación detallada a los participantes de los procedimientos a realizar durante el estudio. Contar con el material necesario, el personal calificado y las técnicas de higiene apropiadas.
49. Medidas de seguridad para el diagnóstico oportuno y prevención de los riesgos
El personal que realizará las canalizaciones y extraerá las muestras sanguíneas está entrenado para realizar una correcta extracción, lo que minimiza el riesgo de complicaciones.
50. Procedimientos a seguir para resolver los riesgos en caso de que se presenten

Durante la realización de los diferentes procedimientos en las visitas estará presente por lo menos un miembro del equipo de investigadores para solucionar cualquier circunstancia que se presente. En caso de que el participante presente alguna complicación se le dará la atención médica pertinente y seguimiento hasta la resolución de la misma.
51. Beneficios directos esperados
Los principales beneficios del estudio es la aportación que se tendrá al conocimiento acerca de los mecanismos por los cuales la sucralosa, que es un aditivo alimentario con alta prevalencia de consumo, genera alteraciones en el metabolismo de la glucosa.
52. Beneficios indirectos esperados
Entre los beneficios indirectos, los participantes recibirán los resultados de sus estudios de laboratorio (CTOG, perfil de lípidos, curva de insulina y GLP-1), además de un plan de alimentación personalizado al finalizar su participación.
53. Ponderación general de riesgos contra beneficios del estudio propuesto
Los beneficios de este proyecto superan a los riesgos potenciales.
54. Especifique costos (directos/indirectos, monetarios, en tiempo de participación, visitas/traslados) que la investigación genere para los sujetos del estudio
La investigación generará como costos indirectos de los participantes el traslado de los mismos al instituto para la realización de las diferentes visitas del estudio, además del tiempo que tomará cada una de ellas (aproximadamente 2 horas para las visitas 1, 2 y 5, aproximadamente 9 horas para las visitas 3 y 4).
55. Especifique si las consultas, exámenes de laboratorio/gabinete y tratamientos médicos/quirúrgicos, generados con motivo del estudio serán o no cubiertos por el paciente/sujeto de investigación
Los sujetos de investigación no tendrán que dar ninguna aportación económica por participar en el proyecto.
56. Informe quién cubrirá los costos asociados a la investigación
Se buscarán apoyos externos para el financiamiento de este proyecto.
57. En caso de que corresponda, especifica los incentivos que se ofrecerán (se entiende incentivo como un ofrecimiento o influencia que compele a realizar una acción sin que implique una desviación importante con nuestro plan general de vida; v. gr.: dar un libro por haber participado)
Nota: Una compensación/incentivo fuera de proporción se considera una actitud coercitiva
No se ofrecerán incentivos económicos ni de ningún otro tipo a los participantes.
58. Citas bibliográficas.
<ol style="list-style-type: none"> 1. Brown RJ, Walter M, Rother KI. Effects of diet soda on gut hormones in youths with diabetes. Diabetes Care. 2012;35(5):959–64. 2. Pepino MY, Tiemann CD, Patterson BW, Wice BM, Klein S. Sucralose affects glycemic and hormonal responses to an oral glucose load. Diabetes Care. 2013;36(9):2530–5. 3. Temizkan S, Deyneli O, Yasar M, Arpa M, Gunes M, Yazici D, et al. Sucralose enhances GLP-1 release and lowers blood glucose in the presence of carbohydrate in healthy subjects but not in patients with type 2 diabetes. Eur J Clin Nutr. 2015;69(2):162–6. 4. Romo-Romo A, Aguilar-Salinas CA, Brito-Córdova GX, Gómez-Díaz RA, Gómez-Velasco D V, Almeda-Valdés P. Effects of sucralose on insulin sensitivity, pancreatic response and appetite regulating hormones. Ciudad de México; Datos en proceso de publicación, 2017. 5. Conte C, Fabbrini E, Kars M, Mittendorfer B, Patterson BW, Klein S. Multiorgan Insulin Sensitivity in Lean and Obese Subjects. Diabetes Care. 2012;35(6):1316–21. 6. Fabbrini E, Yoshino J, Yoshino M, Magkos F, Tiemann Luecking C, Samovski D, et al. Metabolically normal obese people are protected from adverse effects following weight gain. J Clin Invest. 2015;125(2):787–95. 7. Bazúa-Valenti, S et al. The Calcium-Sensing Receptor Increases Activity of the Renal NCC through the WNK4-SPAK Pathway. J Am Soc Nephrol. 2018;29(7):1838-1848. 8. Medina, J et al. Positive Allosteric Modulation of the Calcium-sensing Receptor by Physiological Concentrations of Glucose. J Biol Chem. 2016 Oct 28;291(44):23126-23135.