



## **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,  
ODONTOLOGÍCAS Y DE LA SALUD**

**EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA**

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 sucralosa vs placebo durante 30 días en adultos  
aparentemente sanos.

## **T E S I S**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD

PRESENTA:

**ALONSO ROMO ROMO**

DIRECTORA DE TESIS:

**DRA. PALOMA ALMEDA VALDÉS**

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

**Ciudad Universitaria, Cd. Mx.**

**Diciembre 2022**

## **CONTENIDO:**

1. Glosario	3
2. Resumen	5
3. Marco Teórico	6
4. Antecedentes	21
5. Planteamiento del problema	46
6. Justificación	46
7. Pregunta de investigación	47
8. Hipótesis	47
9. Objetivos	48
10. Metodología	48
11. Cuadro de operacionalización de las variables	69
12. Plan de análisis estadístico	74
13. Consideraciones éticas	75
14. Resultados	77
15. Discusión	100
16. Conclusiones	115
17. Referencias Bibliográficas	117
18. Anexos	133

## **GLOSARIO**

ADA	Asociación Americana de la Diabetes
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
ALT	Alanina aminotransferasa
ARN	Ácido ribonucleico
ASC	Área de superficie corporal
AST	Aspartato aminotransferasa
ATP	Adenosín trifosfato
AUC	<i>Area under the curve</i> (área bajo la curva)
BCAA	Aminoácidos de cadena ramificada
CCI	Coeficiente de correlación intraclass
CCK	Colecistoquinina
CEH	<i>Clamp</i> (pinza) euglucémico hiperinsulinémico
CONACYT	Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
CONSORT	<i>Consolidated standards of reporting trials</i>
COVID-19	Enfermedad por coronavirus 2019
CTOG	Curva de tolerancia oral a la glucosa
DCA	Ácido desoxicólico
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DPP-IV	Dipeptidil peptidasa 4
DXA	Absorciometría de rayos X de energía dual
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria
ENN	Edulcorantes no nutritivos
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FC	Frecuencia cardiaca
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
FSIVGTT	Prueba de tolerancia a la glucosa intravenosa con muestreo frecuente
GDR	<i>Glucose disposal rate</i> (glucosa metabolizable)
GGT	Gamma glutamil transpeptidasa
GIP	Péptido insulinotrópico dependiente de glucosa
GLP-1	Péptido similar al glucagón tipo 1
GLUT2	Transportador de glucosa 2
HbA1c	Hemoglobina glucosilada
HC	Hidratos de carbono
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HOMA-IR	<i>Homeostatic model assessment for insulin resistance</i>
HOMA-%B	<i>Homeostatic model assessment for beta-cell function</i>
HOMA-%S	<i>Homeostatic model assessment for insulin sensitivity</i>
iAUC	Área bajo la curva incremental
ICC	Índice cintura cadera

IDA	Ingesta diaria admisible
IgA	Inmunoglobulina A
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de masa corporal
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
iNOS	Óxido nítrico sintetasa inducible
IRS-1	Sustrato 1 del receptor de insulina
JECFA	Comité de Expertos de la FAO y la OMS en Aditivos Alimentarios
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LPS	Lipopolisacárido
MLG	Masa libre de grasa
MMP-2	Metaloproteinasa de matriz 2
MO	Microorganismos
mTOR	Proteína diana de rapamicina en células de mamífero
NF-kB	Factor nuclear kappa beta
OGIS	<i>Oral Glucose Insulin Sensitivity</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Proteína C reactiva
PCT	Peso corporal total
PI3K	Fosfatidilinositol 3-quinasa
PYY	Péptido tirosina tirosina
QUICKI	<i>Quantitative Insulin Sensitivity Check Index</i>
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SGLT1	Cotransportador de sodio-glucosa tipo 1
SMNE	Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología
SNC	Sistema nervioso central
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
T1R2	Receptor del sabor tipo 1 miembro 2
T1R3	Receptor del sabor tipo 1 miembro 3
TAD	Tensión arterial diastólica
TAS	Tensión arterial sistólica
tAUC	Área bajo la curva total
TLR4	Receptor tipo Toll 4
TMA	Trimetilamina
TMAO	N-óxido de trimetilamina
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
UFC	Unidades formadoras de colonias
UIEM	Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas
VAS	Escalas visuales análogas

## **RESUMEN**

**Introducción.** En la última década se publicaron diferentes ensayos clínicos que reportaron que el consumo de sucralosa produce efectos negativos en el metabolismo de la glucosa. Se han propuesto distintas vías por las que podría generar este efecto, tales como, el aumento en la liberación de las incretinas y la disbiosis de la microbiota intestinal. **Objetivo.** Evaluar el efecto del consumo de sucralosa en el estado de sensibilidad a la insulina en hígado y músculo esquelético, además de estimar los cambios en la microbiota intestinal, en las concentraciones postprandiales de glucosa, insulina, péptido C, y hormonas reguladoras del apetito, así como en las concentraciones de marcadores inflamatorios. **Material y métodos.** Se realizó un ensayo clínico aleatorizado paralelo y triple ciego en una muestra de 24 participantes con peso normal, aparentemente sanos y con un consumo habitual bajo de edulcorantes no nutritivos. Se asignaron aleatoriamente a 12 sujetos en cada grupo (intervención o control) y la intervención consistió en consumir el 30% de la ingesta diaria admisible (15 mg/kg/día) de sucralosa pura a través de cápsulas, o bien, cápsulas con la misma cantidad de placebo (almidón de maíz) durante 30 días. Se realizaron clamps euglucémicos hiperinsulinémicos de dos fases, pruebas de tolerancia a una comida mixta y se recolectaron muestras de heces para evaluar todos los desenlaces de la investigación. **Resultados.** El consumo de sucralosa generó una disminución estadísticamente significativa de la sensibilidad a la insulina en hígado y músculo esquelético, así como mayor área bajo la curva total e incremental de glucosa e insulina durante la prueba de tolerancia a una comida mixta. Respecto a la microbiota intestinal, en el grupo sucralosa se disminuyó significativamente la biodiversidad bacteriana y se observó un incremento en la abundancia relativa de *Bacteroides fragilis*, una disminución de *Ruminococcus bromii* y *Faecalibacterium prausnitzii*, al igual que mayores concentraciones de lipopolisacárido. **Conclusiones.** El consumo de sucralosa a una dosis habitual durante 30 días disminuye la sensibilidad a la insulina tanto a nivel hepático como de músculo esquelético, pudiendo estar involucrado como mecanismo fisiopatológico los cambios en la microbiota intestinal que se asocian a un estado inflamatorio de bajo grado.

## **MARCO TEÓRICO**

El consumo de edulcorantes no nutritivos (ENN) se ha incrementado a nivel mundial como una estrategia para reducir el consumo de alimentos densamente energéticos ricos en azúcar que contribuyen a la pandemia actual que tenemos de sobrepeso y obesidad; generando que la industria alimentaria ofrezca como alternativa, una variedad de productos procesados con menor aporte calórico al utilizar diferentes aditivos alimentarios que reemplazan el uso de la sacarosa (1).

La sucralosa es un ENN que se obtiene de la cloración selectiva de la molécula de la sacarosa, en donde tres de sus grupos hidroxilo se sustituyen por átomos de cloro. Es una sustancia altamente soluble en agua, estable al calor y a los pH ácidos (2,3). Se ha establecido que es 600 veces más dulce que el azúcar de mesa y está aprobado su consumo en la población desde el año 1999 por la FDA (*U.S. Food and Drug Administration*) como endulzante de uso general. Es uno de los ENN preferidos para utilizarse en productos horneados y/o pasteurizados por no perder su dulzor al exponerse a altas temperaturas; además, se considera un sustituto del azúcar con un dulzor de buena calidad sin sabor residual desagradable y representa el ENN que tiene el sabor más similar a la sacarosa (4,5). Su ingesta diaria admisible (IDA), es decir, la cantidad máxima que se podría consumir de sucralosa cada día durante toda la vida sin que represente un riesgo para la salud, está determinada en 5 miligramos por cada kilogramo de peso corporal (mg/kg) de acuerdo a la FDA (4); sin embargo, el Comité de Expertos de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) en Aditivos Alimentarios (JECFA, por sus siglas en inglés) establece una IDA mayor, de 15 mg/kg (6).

Se han realizado diversos estudios *in vitro*, en animales y en humanos para evaluar la seguridad de la sucralosa en cuanto a su toxicidad, metabolismo, efectos reproductivos y efectos carcinogénicos. Con la evidencia obtenida, se concluyó que la sucralosa no causa toxicidad y es eliminada en un 85% en heces sin cambios en su estructura; el 15% restante es absorbido al ser una molécula pequeña pero no es metabolizada y se elimina a través de la orina (7). A la máxima dosis establecida

de consumo no es carcinogénica y puede ser consumida en todas las etapas de la vida incluyendo la gestación (2). La EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) reevaluó recientemente en el 2017 los efectos de la sucralosa en la carcinogénesis debido a un estudio publicado en el 2016 por Soffritti, et al. (8) del Instituto Ramazzini; en donde asociaba el consumo de sucralosa desde el periodo prenatal y durante toda la vida en ratones machos con la aparición de neoplasias hematopoyéticas. La EFSA concluyó en su reporte que no apoyaba las conclusiones de los autores por presentar errores metodológicos, ausencia de efecto dosis-respuesta y que no cumplían con los criterios de causalidad de Bradford-Hill (9).

Por lo anterior, en general se considera que la sucralosa es segura para el consumo en humanos, en parte porque su consumo se caracteriza por no aportar calorías, lo que significaría que al ingerirse no influye en las concentraciones de glucosa ni insulina (10). Sin embargo, a pesar de que hasta el momento no se han confirmado efectos toxicológicos o carcinogénicos ante el uso de este ENN, estudios recientes en animales y humanos han mostrado que no es una sustancia inerte en el organismo y que a través de ciertas interacciones en el tracto gastrointestinal, puede generar alteraciones en el metabolismo de la glucosa (11). Actualmente, se reconocen diferentes efectos a nivel cardiometabólico que podrían atribuirse al consumo de sucralosa, desde mayor adipogénesis, cambios en la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina, mayor liberación de insulina, alteraciones de la microbiota intestinal, incremento en la concentración de marcadores inflamatorios, hasta aumento de la permeabilidad vascular (12).

### **Mecanismos fisiopatológicos propuestos de los efectos de la sucralosa**

Diferentes vías por las cuales la sucralosa pudiera generar un impacto en las concentraciones de glucosa e insulina se han descrito; una de ellas es a través de la interacción con los receptores del sabor dulce presentes en el intestino delgado y el páncreas, y mediante la alteración de la microbiota intestinal (11,13).

Los receptores del sabor dulce se localizan a lo largo del tracto gastrointestinal desde las células de las papilas gustativas en donde se secretan hormonas que están implicadas en la regulación de la saciedad y en el proceso digestivo de los alimentos. Estos mismos receptores del sabor dulce se encuentran en las células beta del páncreas y estudios *in vitro* han mostrado que ENN como la sucralosa, el acesulfame potásico (acesulfame-K) y la sacarina activan los receptores T1R2 (*taste receptor type 1 member 2*, por sus siglas en inglés) y T1R3 estimulando la secreción de insulina dependiendo de la concentración de estas sustancias. A pesar de que la interacción con los ENN no genera ATP (adenosín trifosfato), que se requiere en condiciones fisiológicas normales para despolarizar la membrana de la célula beta pancreática y promover la secreción de insulina, la activación de los receptores del sabor dulce y de otras vías de señalización induce este efecto. Además, se ha observado en estudios que aislaron islotes pancreáticos de ratones, que la sucralosa potencializaba la secreción de insulina en presencia también de glucosa (13,14). Estos efectos en la liberación de insulina provenientes de estudios de investigación básica han tratado de replicarse en ensayos clínicos obteniendo resultados diversos, de los cuáles se hablará más adelante (15). No obstante, se cree que este efecto directo en las células beta pancreáticas es biológicamente poco plausible en los humanos debido a la pequeña cantidad que podría absorberse de sucralosa y pasar a la circulación sistémica (12).

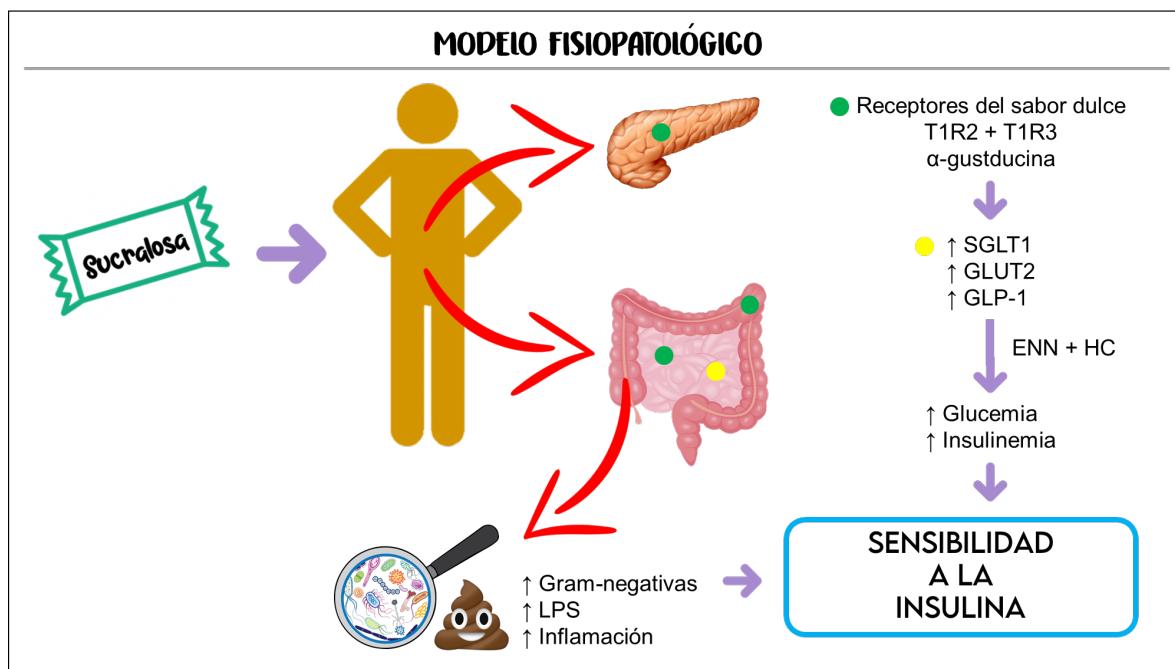
Relacionado con este mecanismo de liberación hormonal, también se ha demostrado que algunos ENN pueden incrementar la absorción de nutrientes. Margolskee et al., mostraron en modelos animales que ante una dieta baja en carbohidratos y suplementada con ENN, se promovía una mayor expresión del cotransportador de sodio-glucosa tipo 1 (SGLT1) en el enterocito al interactuar con el receptor del sabor dulce T1R3 y con los receptores acoplados a una proteína G, la  $\alpha$ -gustducina. Esto se demostró al ver que en ratones *knockout* que no expresaban estos receptores, no se generaba el mismo efecto en el SGLT1 con el consumo de sucralosa. Este efecto fue específico para la sucralosa, el acesulfame-K y la sacarina, pero no para el aspartame (16). Mace y colaboradores, encontraron que la sucralosa de igual forma estimulaba la expresión apical del transportador de

glucosa 2 (GLUT2) regulada a través de los receptores T1R2, T1R3 y α-gustducina en el intestino delgado de ratas. El incremento en la absorción de glucosa provocada por un aumento en la expresión de sus transportadores a nivel intestinal fue mayor para el acesulfame-K, seguido y muy similar al de la sucralosa y, en menor grado, para la sacarina; aunque fue estadísticamente significativo para las tres sustancias (17). Esto se traduce dentro de las conclusiones de los estudios, que los ENN son nutricionalmente activos al incrementar tanto el transporte activo como pasivo de glucosa en el enterocito, aumentando la capacidad de absorción de azúcares cuando se combinan a nivel intestinal con ENN como la sucralosa y, probablemente, jugando un papel importante en la promoción y pronóstico de enfermedades relacionadas con la dieta como la diabetes y la obesidad.

Adicional a los efectos que estos ENN generan en la secreción de insulina y la expresión de transportadores de glucosa, estudios *in vitro* han demostrado que específicamente la sucralosa estimula la secreción de GLP-1 y GLP-2 (péptido similar al glucagón tipo 1 y tipo 2) en una forma de dosis-respuesta (18–20). También se ha comprobado mediante estudios en animales que además de su efecto en GLP-1, la sucralosa incrementa las concentraciones de GIP (péptido insulinotrópico dependiente de glucosa). Este aumento en la liberación de las incretinas está relacionado con el incremento en la expresión del SGLT1 que genera la sucralosa mediante la interacción con los receptores del sabor dulce localizados en las células enteroendócrinas L y K; ya que al añadir gurmarina (un inhibidor de los receptores), no se observaba la misma respuesta en la secreción de las incretinas (13,16). Debido a que las incretinas juegan un papel importante en la liberación de insulina de manera postprandial, este mecanismo también pudiera estar relacionado con las alteraciones en el metabolismo de la glucosa atribuidas al consumo de sucralosa (12).

Finalmente, otra vía que recientemente se ha propuesto como mecanismo para generar resistencia a la insulina, son los cambios en la microbiota intestinal inducidos por el consumo de algunos de los ENN. Los hallazgos obtenidos han sido muy variados y existen estudios en animales para casi todos los ENN aprobados.

Un pequeño estudio cuasiexperimental en 7 humanos encontró una alteración significativa en la tolerancia a la glucosa ligada a los cambios observados en la microbiota intestinal de sujetos que consumieron sacarina (21). Los resultados de estos estudios y, específicamente de los realizados con sucralosa, se describirán posteriormente en la sección de antecedentes, ya que este mecanismo se asocia con crear un ambiente favorable para bacterias patógenas en el colon y generar un estado proinflamatorio por el incremento de diferentes marcadores asociados, promoviendo resistencia a la insulina al alterar la vía de señalización intracelular de esta hormona (22–24). En el siguiente esquema, se representan gráficamente los mecanismos descritos en este modelo fisiopatológico de los efectos de la sucralosa en el metabolismo de la glucosa.



Modelo fisiopatológico de las vías por las cuales el consumo de sucralosa puede modificar la sensibilidad a la insulina en los humanos. T1R2: *taste receptor type 1 member 2*; T1R3: *taste receptor type 1 member 3*; SGLT1: cotransportador de sodio-glucosa tipo 1; GLUT2: transportador de glucosa 2; GLP-1: péptido similar al glucagón tipo 1; ENN: edulcorante no nutritivo; HC: hidratos de carbono; LPS: lipopolisacárido.

## **Sensibilidad a la insulina**

La insulina es una hormona peptídica de 51 aminoácidos formada por dos cadenas polipeptídicas, se libera de las células beta del páncreas e interviene importantemente en el metabolismo de los carbohidratos, las grasas y las proteínas (25). La sensibilidad a la insulina se refiere a la efectividad de la acción de la insulina en diferentes tejidos para lograr la disminución de los niveles de glucosa sanguínea (26). Ante una disminución de la sensibilidad a la insulina se genera un estado patológico llamado resistencia a la insulina caracterizado por una disminución en la respuesta a la acción metabólica de esta hormona para promover la captación de glucosa en el músculo esquelético y el tejido adiposo y suprimir la producción hepática de glucosa (27). Junto con la resistencia a la insulina, se genera una hiperinsulinemia compensatoria que a largo plazo provoca una deficiencia en la secreción de esta hormona, formando parte de la fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2. Además, la resistencia a la insulina es un marcador relacionado a otras patologías como son la obesidad, el síndrome metabólico y las enfermedades cardiovasculares (28).

La insulina posee un receptor de membrana que constituye una proteína formada por dos partes: las subunidades  $\alpha$  y las subunidades  $\beta$ . Las subunidades  $\beta$  se encuentran insertadas en la membrana celular y están unidas a las subunidades  $\alpha$  mediante enlaces disulfuro, de esta forma la molécula forma un solo complejo heterotetramérico. Las subunidades  $\alpha$  a su vez también están unidas entre sí por puentes disulfuro, se localizan en el lado extracelular de la membrana y representan la zona en donde la insulina se une a su receptor. Sin embargo, las subunidades  $\beta$  son las que tienen mayor afinidad por el ATP y poseen la actividad quinasa, por lo que es la parte que se fosforila del receptor para continuar con las vías de señalización que son activadas por la insulina. Una vez que la insulina interacciona con su receptor y éste es activado, una molécula de fosfato se combinará con el aminoácido tirosina del sustrato 1 del receptor de insulina (IRS-1) y desencadenarán diferentes cascadas de señalización a nivel intracelular (29,30).

Principalmente hay dos vías de transducción activadas por la acción de la insulina (27,29):

–Vía de la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K): encargada del metabolismo de la glucosa y de los lípidos, promoviendo la translocación del transportador GLUT4 en la membrana plasmática.

–Vía de las quinasas activadas por mitógenos (MAP quinasas): encargada de regular la síntesis de proteínas para el crecimiento y la proliferación celular (efecto anabólico de la insulina).

La insulina juega un papel fundamental para la regulación de la homeostasis de la glucosa principalmente en tres sitios: músculo esquelético, tejido adiposo e hígado. Los transportadores de glucosa GLUT4 se expresan en el músculo esquelético, tejido adiposo y corazón, y requieren forzosamente de la unión de la insulina con su receptor de membrana para que permita el ingreso de la glucosa al interior de la célula y se aproveche en forma de energía. De esta manera, la insulina promueve además de la incorporación de glucosa en los miocitos y adipocitos, la proteogénesis y glucogenogénesis en el músculo esquelético y la lipogénesis en el tejido adiposo. En el hígado, la función de la insulina es inhibir la gluconeogénesis hepática y promover la glucogenogénesis (31).

Existen varios factores que pueden estar involucrados en la resistencia a la insulina (químicos, inflamatorios, farmacológicos y nutricionales) que se asocian a una amplia gama de condiciones patológicas e inclusive fisiológicas que originan la aparición de esta alteración; tales como la obesidad, sepsis, uso de esteroides, lipodistrofia, exceso en el uso de hormona de crecimiento, embarazo, síndrome de ovario poliquístico, cáncer, enfermedades neurodegenerativas, etc. (27).

En la literatura, se han descrito diferentes factores que alteran la vía de señalización de la insulina, uno de los más importantes son las mutaciones genéticas asociadas a alteraciones en estas vías de transducción de señales activadas por la insulina; sin embargo, se ha visto que la mayoría la personas insulino-resistentes no poseen dichas mutaciones, por lo que la investigación se ha

enfocado a entender otras causas de la resistencia a la insulina (27). Dentro de estos otros promotores de la resistencia a la insulina se incluyen (29,30):

\*La glucotoxicidad (hiperglucemia mantenida y glicosilación de moléculas señalizadoras).

\*Lipotoxicidad (aumento de ácidos grasos libres y deposición ectópica de lípidos en tejidos como hígado, páncreas y corazón).

\*Incremento en la respuesta inflamatoria.

\*Disfunción mitocondrial (a su vez promueve la producción de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa [TNF- $\alpha$ ], interleucina-1 [IL-1] e interleucina-6 [IL-6]).

\*Estrés del retículo endoplásmico (disminuye la oxidación de lípidos promoviendo su acumulación y se aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno [ROS]).

Todos estos componentes generan a través de vías independientes una inhibición en la fosforilación de la tirosina quinasa con mayor activación de la serina/treonina quinasa. Esto favorece que se interrumpa la cascada de señalización a través del IRS-1 y finalmente no continúe la vía de la PI3K para la expresión del transportador GLUT4 en la membrana celular (29).

#### *Métodos para la medición de la sensibilidad a la insulina*

Existen métodos directos e indirectos para cuantificar la sensibilidad a la insulina que han sido muy útiles para investigar mecanismos fisiopatológicos, resultados de intervenciones terapéuticas y mejoras clínicas de pacientes con alteraciones en el metabolismo de la glucosa (28).

Dentro de los métodos directos se encuentra la pinza o *clamp* euglucémico hiperinsulinémico (CEH) considerado como el estándar de oro para medir la sensibilidad a la insulina, el *clamp* hiperglucémico y la prueba de supresión de

insulina (28). En los métodos indirectos se ubica la prueba de tolerancia a la glucosa intravenosa (FSIVGTT, por sus siglas en inglés *Frequently Sampled Intravenous Glucose Tolerance Test*) que se considera la mejor herramienta para evaluar la respuesta pancreática (secreción de insulina) (32) y que además existe una versión modificada de esta prueba que permite estimar la sensibilidad a la insulina y presenta muy buena correlación con los resultados del CEH ( $r=0.89$ ;  $P<0.001$ ) (33). La curva de tolerancia oral a la glucosa (CTOG) también forma parte de los métodos indirectos y es frecuentemente utilizada para establecer el diagnóstico de diabetes o intolerancia a los carbohidratos (prediabetes) (28).

Finalmente, existen índices simples subrogados que son indicadores sencillos que proporcionan una estimación del estado de sensibilidad/resistencia a la insulina basados en interpretaciones derivadas de las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno, así como fórmulas matemáticas que utilizan datos derivados de pruebas como la CTOG, mediciones antropométricas u otros indicadores bioquímicos. Para cada uno de estos índices hay puntos de corte específicos para identificar la presencia de resistencia a la insulina. Algunos de estos índices son: insulina en ayuno, relación glucosa/insulina, HOMA (Homeostatic Model Assessment), QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) y Matsuda, McAuley, OGIS (Oral Glucose Insulin Sensitivity), entre otros (26).

El CEH consiste en administrar una infusión constante de insulina (de ahí el nombre de hiperinsulinémico) provocando un aumento en la utilización de glucosa en músculo esquelético y tejido adiposo y suprimiendo la producción hepática de glucosa. De igual forma, se administra una infusión intravenosa de solución glucosada al 20% y se monitoriza la glucemia del paciente durante al menos dos horas en intervalos de 5 a 10 minutos. El tiempo de duración de este estudio para cada paciente es diferente al estar modificando la infusión de glucosa constantemente durante la prueba hasta mantener las concentraciones plasmáticas de glucosa estables entre 95 y 105 mg/dL (euglucémico) (28).

Con la tasa de infusión de glucosa se calcula el estado de sensibilidad a la insulina con el “valor M”, también llamado “glucosa metabolizable” o GDR (Glucose

Disposal Rate). Al suprimir la producción endógena de insulina y conocer la tasa de infusión de la glucosa administrada vía intravenosa que se requirió para mantener la euglucemia ante una infusión constante de insulina, se evalúa la utilización de glucosa. Por lo tanto, a mayor sensibilidad a la insulina, se administrará una mayor cantidad de glucosa y, ante un estado de resistencia a la insulina, se requerirá una menor infusión de glucosa (28,32). De acuerdo con lo anterior, se considera un valor M de  $7.1 \pm 2.1$  mg/kg/min como normal en sujetos sanos (34,35).

Una característica de este método es que idealmente se realiza en sangre arterial debido a que la sangre venosa sobreestima la sensibilidad a la insulina, sin embargo, en la práctica clínica se realiza la punción en vena y una técnica para disminuir este efecto es canalizar al paciente en contraflujo y utilizar una caja caliente que favorezca la apertura de los capilares arteriovenosos y se obtengan muestras de sangre “arterializada” (28).

Existe una versión del CEH que consiste en administrar una infusión de trazadores previo al inicio del estudio. Un trazador es una molécula de glucosa, o bien, un análogo que ha sido marcado (isotópica o químicamente) y por lo tanto puede distinguirse de la molécula normal de glucosa por diferencias en su masa, aunque tengan el mismo comportamiento cinético. Se administra en cantidades mucho menores que la solución glucosada para no perturbar la dinámica del estudio. Esto permite evaluar la habilidad del organismo para la utilización de la glucosa así como la producción endógena de la misma, y de esta forma se puede diferenciar la sensibilidad a la insulina en el hígado y en el músculo esquelético. Para medir la sensibilidad a la insulina en el tejido adiposo se puede realizar la administración de otros trazadores como el palmitato (32,36).

Para estimar la sensibilidad a la insulina en ciertos tejidos, se utilizan diferentes tasas de infusión de la insulina. Por ejemplo, para evaluar sensibilidad a la insulina en hígado se requieren dosis bajas de insulina ( $\approx 7$  mU/m<sup>2</sup> • min), para tejido adiposo se requieren dosis moderadas de insulina ( $\approx 20$  mU/m<sup>2</sup> • min) y para músculo esquelético se requieren dosis altas de insulina ( $\geq 40$  mU/m<sup>2</sup> • min). El valor M puede expresarse por peso corporal (mg/kg • min), por área de superficie corporal

(mg/m<sup>2</sup> • min), o bien, ajustarse por masa libre de grasa (mg/kg MLG • min). Otro parámetro derivado del CEH es el valor M/I, que ajusta el valor M por las concentraciones de insulina durante el periodo estable y representa la cantidad de glucosa metabolizada por unidad de insulina en plasma (37).

## Incretinas

Las incretinas son péptidos intestinales que actúan como hormonas estimulando aproximadamente el 50% de la liberación de insulina en el estado postprandial y en forma dependiente de la glucosa presente en el intestino. Las principales incretinas son el GLP-1 y el GIP. Existe evidencia que asocia a las incretinas con neogénesis y prevención de apoptosis de las células beta del páncreas (38,39).

El GLP-1 fue descubierto en 1983, es una hormona producida y secretada en las células enteroendócrinas L que se localizan en el íleon distal y el colon en respuesta a la ingestión de nutrientes (principalmente carbohidratos y grasas). La vida media del GLP-1 es de 1 a 2 minutos al ser rápidamente degradado por la enzima dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV). Interviene en la regulación de la glucemia postprandial al estimular a las células beta del páncreas para secretar insulina, retrasa el vaciamiento gástrico para que el tránsito de los nutrientes del estómago al intestino sea más lento y suprime la secreción de glucagón (40,41). Su secreción consta de dos picos, el primero es a los 15-20 después de la ingestión de alimentos y el segundo (pico máximo) es a los 60 minutos (42).

Las concentraciones séricas de GLP-1 son muy bajas, los niveles fisiológicos de GLP-1 total varían entre 5 a 80 pmol/L en ayuno (43). En pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) se han observado concentraciones disminuidas de esta hormona, aunque sus acciones biológicas se preservan (40).

La administración de GLP-1 en humanos reduce la ingestión alimentaria incrementando la sensación de saciedad y plenitud y a largo plazo promueve la pérdida de peso. Los mecanismos relacionados incluyen el retraso en el

vaciamiento gástrico y un efecto a nivel del sistema nervioso central (SNC) en los centros hipotalámicos que regulan la ingestión de alimentos (41).

El GIP, antes llamado polipéptido gástrico inhibitorio, es un péptido de 42 aminoácidos producido en las células K de la mucosa del intestino delgado (duodeno y yeyuno). Se libera después de la ingestión de glucosa o grasa, y tiene vida media de 18 minutos. En adipocitos aumenta el almacenamiento de triglicéridos. En presencia de niveles elevados de glucosa, se une a su receptor en las células beta, activa la adenilato ciclase y aumenta la concentración de calcio intracelular ocasionando secreción de insulina. Así, estimula la secreción de insulina dependiente de glucosa y disminuye la producción hepática de glucosa. En DM2, a pesar de que la secreción de GIP está preservada, su efecto insulinotrópico está reducido (38).

Se ha reportado un incremento en las concentraciones de GLP-1 generado por el consumo de sucralosa en cuatro ensayos clínicos aunque hay otros estudios que no han confirmado este efecto, no obstante, en los estudios que no han reportado cambios se han medido las concentraciones de esta hormona ya sea en ayuno o durante una curva en donde la sucralosa fue administrada de forma aislada en el tracto gastrointestinal. Se ha propuesto recientemente que el incremento en la secreción de GLP-1 está ligada a la combinación del ENN con los carbohidratos en el intestino (44–47).

## **Microbiota intestinal**

La microbiota se define como el conjunto de microorganismos (MO) que habitan en un nicho ecológico determinado, mientras que el microbioma engloba tanto a los MO, sus genes y metabolitos. En el humano, se encuentran presentes estos MO en el aparato genitourinario, la cavidad oral, la nasofaringe, el tracto respiratorio, la piel y principalmente en el tracto gastrointestinal (con mayor proporción en el colon) (48,49). Se ha estimado que existen más de  $10^{14}$  de MO a lo largo de todo el tracto gastrointestinal y que esto representa 10 veces más células

bacterianas que las del mismo cuerpo; de igual forma, abarca 150 veces más genes que los que componen el genoma humano (50,51).

Dentro de los principales *phylums* de bacterias se encuentran los firmicutes, bacteroidetes, actinobacteria, proteobacteria y verrucomicrobia; siendo los primeros dos, los grupos más abundantes en la microbiota intestinal (del 90 al 95%) (52). Se han identificado más de 1,000 diferentes especies de bacterias en el intestino del humano y existe una gran diversidad entre la microbiota que caracteriza a cada persona. El genoma entre un individuo y otro es 99.9% idéntico; a diferencia del microbioma que puede ser hasta un 80-90% diferente del que presenta una misma persona en su mano en comparación con su intestino (53,54).

La microbiota intestinal ejerce diferentes funciones en la nutrición (metabolismo energético, síntesis de vitamina K y vitaminas del complejo B), en la inmunidad (protección contra la invasión de gérmenes patógenos) y en la inflamación sistémica (48,53,55). Algunos de los factores que determinan la composición de la microbiota de cada individuo se presentan desde la vía de nacimiento, si se recibió lactancia materna o no, la alimentación complementaria que se tuvo, el uso de antibióticos, etc. Todo esto influye en la microbiota intestinal que se establece a partir de los dos años de edad y posteriormente se diversifica, manteniéndose estable generalmente durante la etapa adulta pero puede ir cambiando de acuerdo a la dieta y al estilo de vida que se tenga (56). Es bien conocido que la microbiota intestinal puede ser alterada importantemente por diversos factores como el uso de antibióticos, antiinflamatorios, laxantes, antiácidos y con el tratamiento de quimioterapia. En menor grado, puede ser modificada por el estrés, el consumo de agua clorada y hasta el mismo hábito deposicional (57,58). Finalmente, en la vejez, la diversidad de la microbiota disminuye y se agrega el efecto que otras patologías y medicamentos pudieran generar (59).

La microbiota intestinal posee enzimas que permiten la fermentación de carbohidratos (polisacáridos) no digeribles, generando monosacáridos y ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente acetato, propionato y butirato en una relación normalmente de 3:1:1 a 10:2:1 (48,53). Estos AGCC tienen diversos

efectos fisiológicos, el butirato representa una fuente de energía para los colonocitos y posee una función protectora contra el cáncer al tener la habilidad de inducir apoptosis en células cancerígenas presentes en el colon. El propionato y el acetato pasan a la circulación portal para que en el hígado, el acetato sea utilizado como sustrato para la gluconeogénesis, la síntesis de colesterol y triglicéridos, y se cree que tiene un papel importante en la regulación central del apetito de acuerdo a estudios recientes en ratones. El propionato funciona como fuente de energía de las células epiteliales y a su vez reduce la lipogénesis *de novo* en el hígado (53,57). Se estima que aproximadamente el 10% del total de energía que absorbemos, proviene de la producción de los AGCC a través de la digestión bacteriana de las fibras dietéticas (48).

Se conoce como disbiosis cuando una alteración de la microbiota genera una respuesta adversa en el hospedero, es decir, un desequilibrio en la composición bacteriana en comparación con el patrón que se considera normal (58). Se ha asociado la composición de la microbiota intestinal con la presencia de diferentes patologías como las enfermedades cardiovasculares (regulación de las concentraciones de colesterol sérico asociado a los ácidos biliares, inflamación crónica), diabetes (absorción de glucosa, control glucémico), obesidad (mayor extracción de energía en los alimentos), enfermedades inflamatorias incluyendo las atópicas (asma y alergias), síndrome de intestino irritable (inapropiada estimulación del sistema inmunológico) y neoplasias (activación carcinogénica, hiperproliferación relacionada con la inflamación crónica) (49).

La evidencia respecto a la relación entre el consumo de ENN y los cambios en la microbiota intestinal es insuficiente, hasta el momento se sabe que sí generan cambios significativos en la composición de la microbiota pero no se ha podido caracterizar del todo una disbiosis específica o entender a profundidad las repercusiones clínicas que estas alteraciones podrían tener. A diferencia de otras enfermedades como la obesidad, cambios específicos en la microbiota presente en el intestino de estas personas han sido descritos y se caracterizan por un incremento en la relación de Firmicutes/Bacteroidetes (60). Estos cambios en la

microbiota intestinal asociada a la obesidad se deben principalmente a una dieta rica en grasas (dieta occidental), ya que en ensayos clínicos se ha comprobado que la cantidad de energía excretada en las heces es menor, traduciéndose a una microbiota más eficiente para la extracción y absorción de energía (de hasta 150 Kcal extras por día) (61).

En los estudios disponibles que hay acerca de los efectos de la sacarosa en la microbiota intestinal de ratones, se ha encontrado un incremento significativo del lipopolisacárido (LPS), de la iNOS (óxido nítrico sintetasa inducible) y de la metaloproteinasa de matriz 2 (MMP-2) (24). El LPS es el principal componente en la estructura de la membrana celular de las bacterias Gram-negativas (la mayoría reconocidas como patógenas en el humano, por ejemplo *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas*) y está conformado por un polisacárido hidrofílico y un compuesto hidrofóbico, el lípido A (62,63). El LPS se reconoce como una endotoxina y el lípido A es el mayor responsable de esta actividad al ser identificado por las células del sistema inmunológico como una molécula patógena (64). El LPS se une a los receptores TLR-4 (receptor tipo Toll 4) que se expresan en las células responsables de la inmunidad innata (macrófagos, células endoteliales, células B, células T, mastocitos, adipocitos, células epiteliales y células dendríticas), desencadenando un aumento en la producción de citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  (48,62,63). En la sección de antecedentes se describen los estudios tanto *in vitro*, en animales y en humanos que han evaluado con diversas metodologías, los efectos de la sacarosa en la microbiota intestinal y su impacto en el metabolismo de la glucosa.

## **ANTECEDENTES**

Se han realizado al menos 23 ensayos clínicos en donde se han evaluado los efectos de la sucralosa en distintas variables relacionadas con el metabolismo de la glucosa como, por ejemplo, las concentraciones de glucosa, insulina, incretinas, hemoglobina glucosilada (HbA1c), péptido-C, glucagón, sensibilidad a la insulina, función de célula beta, índice insulinogénico, entre otras (65).

De estos ensayos clínicos mencionados, solamente doce han encontrado cambios estadísticamente significativos producidos por la sucralosa en uno o varios de los desenlaces considerados.

Brown, *et al.* [2012] (66) 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 DM2 y 25 sujetos sanos en el grupo control. Se les realizaron dos 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 cantidades). En los resultados del estudio encontraron que 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 insulinotrópico dependiente de glucosa) y PYY (péptido tirosina tirosina).

Pepino, *et al.* [2013] (67) realizó otro ensayo clínico aleatorizado cruzado en 17 sujetos con obesidad mórbida que tenían una media del índice de masa corporal (IMC) de  $42.3 \pm 1.6 \text{ kg/m}^2$  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 de igual forma una reducción del  $7 \pm 4\%$  ( $p=0.04$ ) en la depuración de insulina cuando los participantes consumieron la sucralosa. No hubo cambios en las variables como GLP-1, GIP, glucagón y respuesta pancreática.

Temizkan, et al. [2015] (44) 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  $51.5 \pm 9.2$  años; el segundo grupo estaba conformado por 8 sujetos sanos con edad promedio de  $45.0 \pm 4.1$  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.

Sylvestsky, et al. [2016] (47) evaluaron en 61 participantes aleatorizados, los efectos de 6 diferentes intervenciones incluyendo refrescos de dieta o sucralosa aislada en comparación con dos controles: agua carbonatada o agua simple. La sucralosa aislada (68 mg, 170 mg y 250 mg) no generó ningún cambio significativo vs agua simple. En comparación con el agua carbonatada sola, el refresco de dieta sabor cola (68 mg de sucralosa y 41 mg de acesulfame-K) incrementó el AUC de GLP-1 ( $1142.9 \pm 702.8$  vs  $1274.5 \pm 781.8$  pmol/L/120 min;  $p=0.04$ ); el refresco de dieta sabor limón (18 mg de sucralosa, 18 mg de acesulfame-K y 57 mg de aspartame) sólo mostró una tendencia en el mismo efecto ( $1268.5 \pm 739.7$  pmol/L/120 min;  $p=0.07$ ). El refresco de dieta sabor cola mostró tendencia a aumentar las concentraciones de GIP ( $p=0.07$ ). Tanto el pico como el AUC en la insulina fue 17 a 25% mayor con las 3 intervenciones del brazo 2 (refrescos de dieta y agua carbonatada con 68 mg de sucralosa y 41 mg de acesulfame-K) vs control sin llegar a la significancia estadística y sin afectar la glucemia, el estudio menciona en sus conclusiones que esta observación es de relevancia clínica y que debe de

estudiarse a profundidad posteriormente. No se encontraron diferencias significativas en las demás variables de resultado (glucosa, péptido C, absorción de glucosa, vaciamiento gástrico, hambre o saciedad). Dentro de sus limitaciones se encuentran que fue un estudio cruzado, que casi la mitad de los participantes en ambos brazos presentada sobrepeso u obesidad (46% y 42%) y que hubo diferencias estadísticamente significativas en algunas características basales como la raza, insulina basal, péptido-C, HOMA y consumo habitual de bebidas con ENN.

Lertrit, et al. [2018] (45) realizó un ensayo clínico cruzado con seguimiento a 4 semanas y teniendo una semana como periodo de lavado en 15 individuos sanos. La intervención consistió en tomar una cápsula todas las mañana con 200 mg de sucralosa o cápsulas vacías (control). En sus resultados se observó que la respuesta pancreática aguda fue menor con el consumo de sucralosa ( $58.9 \pm 48.61$  vs  $69.94 \pm 73.81 \mu\text{U/ml}$ ;  $p<0.01$ ), esta variable la evaluaron mediante una FSIVGTT de 10 minutos de duración para cuantificar sólo la primer fase de secreción de insulina. La sensibilidad a la insulina, medida a través del índice de Matsuda con una CTOG, disminuyó con el consumo de sucralosa ( $4.69 \pm 1.67$  vs  $5.31 \pm 2.56$ ;  $p<0.01$ ) y se observó una mayor AUC de GLP-1 ( $23.16 \pm 18.86$  vs  $18.5 \pm 22.22 \text{ pmol/L}/120 \text{ min}$ ;  $p<0.01$ ). Además de sus variables principales de resultado, también encontraron cambios significativos en el HOMA-IR (aumento de  $1.48 \pm 0.62$  a  $1.85 \pm 1.16$ ;  $p<0.01$ ), HOMA-%S (disminución de  $139.86 \pm 95.96$  a  $106.88 \pm 37.09$ ;  $p<0.01$ ), HOMA-B (aumento de  $103.03 \pm 34.28$  a  $117.47 \pm 52.29$ ;  $p<0.01$ ), índice insulinogénico (aumento de  $0.95 \pm 0.6$  a  $1.44 \pm 1.01$ ;  $p<0.01$ ) e índice de disposición (aumento de  $4.92 \pm 4.12$  a  $7.25 \pm 6.68$ ;  $p<0.01$ ). Algunas de sus limitaciones fueron que las cápsulas no contenían nada (pudiendo ser detectado por los participantes), el tamaño de muestra y que el 6.7% de los sujetos tenía sobrepeso y el 40% obesidad.

Los hallazgos de los estudios antes descritos han dado la pauta para generar incertidumbre sobre los efectos metabólicos de la sucralosa en el organismo y que es muy probable que intervenga de alguna forma en el metabolismo de la glucosa. Esto ha motivado a crear nuevas investigaciones que evalúen distintos parámetros

afines a esta área en estudios con mayor rigor metodológico teniendo un grupo control en un diseño paralelo, estableciendo criterios de inclusión más adecuados y específicos, exponiendo a los participantes a una ingestión de sucralosa por tiempos más prolongados y midiendo los desenlaces con pruebas más sensibles y completas.

Nuestro grupo de investigación realizó un ensayo clínico aleatorizado paralelo [2018] (46) 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 (en promedio fue una dosis aproximada de 140 mg/día) 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 una FSIVGTT modificada 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] [ $(\mu\text{U/L})^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ] ( $p<0.01$ ), 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.

Nichol, et al. [2019] (68) realizó un estudio muy similar al de Pepino, et al. [2013] (67), ya que ambos estudios son del mismo grupo de investigación. Administraron de forma aguda 48 mg de sucralosa antes de una CTOG en dos grupos: individuos con normopeso e individuos con obesidad. Los cambios al estudio fue un tercer brazo de intervención haciendo una “alimentación simulada” para la estimulación oral de los receptores del sabor dulce y que durante las CTOG se administraron isótopos estables de glucosa para evaluar la tasa de aparición de glucosa (sensibilidad a la insulina hepática). Se observaron mayores concentraciones de glucosa ( $p=0.03$ ) con el consumo de sucralosa en comparación con el agua (AUC  $30 \pm 10\%$  mayor). La respuesta pancreática se disminuyó a los 20-40 minutos en los sujetos normopeso pero se incrementó a los 90-120 minutos en los sujetos con obesidad ( $p<0.05$ ). La “alimentación simulada” con sucralosa disminuyó las concentraciones de insulina en ambos grupos a los 60 minutos ( $p<0.05$ ). La ingestión de sucralosa incrementó en un  $52 \pm 20\%$  la sensibilidad a la insulina en los sujetos con peso normal ( $p<0.05$ ) pero no se modificó en los sujetos con obesidad; los autores concluyeron que tal vez este efecto se presenta sólo de manera aguda y que probablemente se va modificando con el consumo crónico de la sucralosa como se ha reportado en otros estudios en donde hay una reducción de la sensibilidad a la insulina. Los participantes con obesidad mostraron concentraciones plasmáticas más altas de sucralosa ( $p<0.01$ ) durante la última hora de la CTOG, lo que podría estar relacionado al aumento en las concentraciones de insulina en los 90-120 minutos de la prueba en estos sujetos.

Dalenberg, et al. [2020] (69) comparó el efecto del consumo de bebidas con sucralosa (60 mg) o sacarosa (30.38 g) o sucralosa (60 mg) + maltodextrinas (30.38 g) durante dos semanas en adultos con IMC  $<30 \text{ kg/m}^2$  no consumidores habituales de ENN. Se observó un incremento en la primera fase de secreción de insulina ( $p=0.03$ ) y en los 120 min del AUC de insulina ( $p<0.01$ ) después del consumo de las

bebidas con sucralosa + maltodextrinas, pero no con la sucralosa aislada. Posteriormente, hizo un segundo experimento con las mismas intervenciones pero en adolescentes de 13 a 17 años de edad, tomaron una muestra en ayuno para calcular HOMA-IR y no fueran tan invasivos los procedimientos para esta población. Este segundo experimento tuvo que suspenderse al hacer un análisis preliminar en el sujeto 11 aleatorizado y observar que el incremento en el HOMA-IR que estaban presentando los participantes asignados al consumo de las bebidas de sucralosa + maltodextrinas fue muy considerable (de <3.5 a >12.9). Finalmente, realizó un tercer experimento en adultos en donde sólo les proporcionó las bebidas con los 30.38 g de maltodextrinas, sin observar cambio alguno y concluyendo que el efecto observado en los experimentos 1 y 2 se deben a la combinación del consumo de la sucralosa con los carbohidratos.

Bueno-Hernández, et al. [2020] (70) evaluaron el efecto de la exposición crónica (10 semanas) del consumo de bebidas con dos diferentes dosis de sucralosa (48 y 96 mg por día disueltos en 60 ml de agua) en comparación con el consumo de agua simple. Los resultados arrojaron en la visita final un incremento significativo en diferentes tiempos durante una CTOG de 2 horas en las concentraciones de insulina ( $p \leq 0.05$ ) y glucosa ( $p < 0.05$ ) en el grupo que consumió las bebidas con 48 mg/d de sucralosa, sin explicarse por qué no se observó el mismo efecto con la dosis mayor. En ambos grupos de sucralosa (48 y 96 mg/d) se observó mayor AUC de insulina en la CTOG post-intervención ( $p < 0.02$ ). Cabe mencionar, que las pérdidas de seguimiento en este estudio fueron muy altas (iniciando con un tamaño de muestra de 46, 46 y 45 individuos en cada grupo y finalizando con 30, 31 y 34, respectivamente). Aunado a estos resultados, también se reportó una reducción significativa en el índice de Matsuda al final de la intervención en el grupo que consumió los 48 mg/d de sucralosa ( $p=0.01$ ) y un incremento en el valor de HbA1c en el grupo de 96 mg/d de sucralosa ( $p=0.03$ ).

Finalmente, en otra publicación de nuestro grupo de investigación del año 2020 (71), se realizó un análisis de desenlaces secundarios del ensayo clínico previamente descrito. Se evaluaron los cambios en la concentración plasmática en

ayuno de hormonas reguladoras del apetito como GLP-1, ghrelina, leptina y PYY después del consumo del 15% de la IDA de sucralosa durante 14 días. Solamente se pudieron medir las concentraciones de las hormonas en ayuno debido a que nuestra prueba para medir la sensibilidad a la insulina era intravenosa y no se podían evaluar los cambios en las hormonas de manera postprandial. No se encontró ningún cambio estadísticamente significativo en ninguna de las hormonas en ambos grupos. Además, se analizaron los cambios en el HOMA1-IR y HOMA2-IR a lo largo de la intervención y en una visita post-intervención (1 semana después de suspender el consumo de sucralosa), encontrándose que en el grupo de sucralosa hubo un incremento significativo en el HOMA2-IR ( $p=0.04$ ) y una tendencia a incrementar la insulina en ayuno ( $p=0.06$ ) y el HOMA1-IR ( $p=0.08$ ) a través del tiempo. También se observó un aumento significativo con el consumo de sucralosa ( $p<0.05$ ) vs el grupo control en la visita post-intervención en los valores de insulina en ayuno, HOMA1-IR y HOMA2-IR.

En el cuadro de análisis de la literatura 1 se describen las principales características de los 23 ensayos clínicos que han evaluado los efectos del consumo de sucralosa en variables relacionadas con el metabolismo de la glucosa. En el cuadro de análisis de la literatura 2 se resumen y comparan algunas de las características metodológicas más importantes de estos estudios.

## Cuadro de Análisis de la Literatura 1

### Ensayos clínicos que han evaluado efectos de la sucralosa en el metabolismo de la glucosa.

No.	Autor y año	Población	Metodología	Variables	Resultados
01	Mezitis NH, et al. 1996 (72)	13 individuos con DM1 y 13 con DM2 con valores de hemoglobina glucosilada (HbA1) <10%	Estudio cruzado 2 visitas: consumo en ayuno de cápsula con 1000 mg de sucralosa o celulosa como placebo, posteriormente consumo de bebida estandarizada de 360 Kcal como desayuno Prueba de 4 horas	Glucosa Péptido-C	Ingestión de sucralosa no tuvo efectos en las concentraciones de glucosa y péptido-C vs placebo Uno de cada tres participantes con DM1 tuvo episodio de hipoglucemia ante el consumo de sucralosa, sin embargo, no se considera que esta sea la causa
02	Grotz VL, et al. 2003 (73)	128 individuos con DM2 con edades de 31-70 años y HbA1c ≤10%	Estudio paralelo 2 grupos asignados aleatoriamente: consumo diario de dos cápsulas con sucralosa (667 mg en total) o dos cápsulas de celulosa como placebo durante 13 semanas	Glucosa Péptido-C HbA1c	No se encontraron efectos de la sucralosa en los niveles de glucosa, péptido-C o cambios en la HbA1c
03	Ma J, et al. 2009 (74)	7 individuos sanos con IMC $21.6 \pm 1.2 \text{ kg/m}^2$ y $24 \pm 2$ años de edad no fumadores con consumo <20 g de alcohol por día	Estudio cruzado 4 visitas: infusión por sonda intragástrica de 50 g de sacarosa, 80 mg de sucralosa, 800 mg de sucralosa o 500 ml de solución salina en 3 minutos Prueba de 240 minutos	Glucosa Insulina GLP-1 GIP Vaciamiento gástrico	Se incrementaron las concentraciones de glucosa, insulina, GLP-1 y GIP con la sacarosa ( $p < 0.05$ ) vs solución salina, sin embargo, ninguna de las dosis infundidas de sucralosa mostró efectos vs solución salina El vaciamiento gástrico fue más lento solamente con la sacarosa ( $p < 0.005$ )
04	Ma J, et al. 2010 (75)	10 individuos sanos con IMC $23.4 \pm 0.8 \text{ kg/m}^2$ y $27 \pm 2$ años de edad	Estudio cruzado 2 visitas: infusión por sonda intraduodenal de sucralosa (960 mg) en infusión salina o únicamente solución salina durante 150 min	Glucosa GLP-1	No hubo diferencias ante el consumo de sucralosa para ninguna de las variables comparado con la solución salina La sucralosa no incrementa la absorción intestinal de glucosa ni estimula la secreción de GLP-1

05	Ford HE, et al. 2011 (76)	8 individuos sanos de 22 a 27 años de edad con IMC 18.8 kg/m <sup>2</sup> no fumadores	Estudio cruzado 3 soluciones: 50 ml agua simple, sucralosa (40 mg aprox) en agua o maltodextrina con sucralosa (40 mg aprox) en agua Después de la toma se empleó la alimentación simulada al pasar la solución por la boca sin deglutar Prueba de 120 min, después consumo de buffet <i>ad libitum</i>	Glucosa Insulina GLP-1 PYY Ingesta alimentaria Hambre Deseo de consumir alimentos Estimulación cefálica	La sucralosa no estimuló la secreción de GLP-1 e insulina a través de la fase cefálica Sucralosa no presentó efectos postprandiales en los niveles de glucosa, insulina, GLP-1 y PYY No hubo diferencias en las sensaciones de apetito y la ingestión alimentaria entre los diferentes grupos
06	Brown AW, et al. 2011 (77)	8 mujeres con IMC 22.16±1.71 kg/m <sup>2</sup> y con 21.75±2.25 años de edad no fumadoras, sin diabetes y con consumo bajo de alcohol	Estudio cruzado 4 visitas: bebidas de 355 ml: agua simple, 50 g de sacarosa, 6 g de splenda granulado (420 mg sucralosa aprox) o 50 g sacarosa + 6 g splenda granulado (420 g sucralosa aprox) Después de 60 min se consumió un desayuno de 500 Kcal y se dio seguimiento por dos horas Uso de VAS	Glucosa Insulina Glucagón Triglicéridos Ghrelina Hambre Cansancio Bienestar gastrointestinal Bienestar general	No hubo diferencias significativas en los desenlaces subjetivos, triglicéridos y glucagón entre los 4 tratamientos Concentraciones más altas de glucosa e insulina y más bajas de ghrelina ( $p<0.05$ ) ante el consumo de tratamientos con sacarosa independientemente del contenido de sucralosa Ingestión de sucralosa no tuvo ningún efecto en los desenlaces vs agua simple
07	Steinert RE, et al. 2011 (78)	12 individuos sanos con edad de 23.3±0.7 años con IMC 23.0±0.5 kg/m <sup>2</sup> no fumadores sin enfermedades crónicas	Estudio cruzado 6 visitas: infusión intragástrica en 2 minutos de 250 ml de agua simple o agua simple con glucosa (50 g) o fructosa (25 g) o aspartame (169 mg) o acesulfame-K (220 mg) o sucralosa (62 mg) Prueba de 120 min Uso de VAS para medir apetito	Glucosa Insulina GLP-1 PYY Ghrelina Hambre Saciedad Plenitud	Ninguno de los ENN administrados mostraron efectos en glucosa, insulina, GLP-1, PYY o ghrelina comparados vs agua simple Menores niveles de hambre, saciedad y plenitud mostrados para ENN vs glucosa y fructosa, sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas

08	Wu T, et al. 2012 (79)	10 individuos con edad $28.8 \pm 4.0$ años e IMC $25.5 \pm 1.5$ kg/m <sup>2</sup>	Estudio cruzado 4 visitas: consumo de 40 g glucosa, 40 g tagatosa/isomaltosa, 40 g 3-O-metilglucosa, 60 mg sucralosa Toma de muestras durante 240 minutos	Glucosa GLP-1 GIP Insulina Vaciamiento gástrico	El consumo de sucralosa no ocasionó efectos en las concentraciones de glucosa, insulina, GLP-1 y GIP El vaciamiento gástrico fue más lento para la sucralosa comparado con la ingestión de tagatosa/isomaltosa ( $p=0.033$ ) y la 3-O-metilglucosa ( $p=0.012$ )
09	Brown R, et al. 2012 (66)	Individuos de 12 a 25 años en tres grupos: 9 con DM1, 10 con DM2 y 25 del grupo control (individuos sanos con IMC $25.7 \pm 4.6$ kg/m <sup>2</sup> ) Todos los sujetos con DM2 tenían sobrepeso	Estudio cruzado CTOG de 3 horas con carga de 75 g Minuto -10 tomaban 240 ml de refresco de dieta con 46 mg de sucralosa y 26 mg de acesulfame-K y agua carbonatada en la otra visita	Glucosa Péptido-C GLP-1 GIP PYY	AUC de GLP-1 43% fue mayor con la ingestión de sucralosa + acesulfame-k en DM1 ( $p=0.02$ ) AUC de GLP-1 34% mayor con la ingestión de sucralosa + acesulfame-k en el grupo de sujetos sanos ( $p=0.029$ ) No hubo diferencias en glucosa, péptido-C, GIP y PYY
10	Pepino Y, et al. 2013 (67)	17 individuos IMC $42.3 \pm 1.6$ kg/m <sup>2</sup> Consumo previo bajo de ENN (definido como menos de una cucharada de sustituto o una lata de refresco de dieta a la semana) 15 mujeres y 2 hombres, 13 de raza afroamericana y 4 caucásicos HOMA-IR $\leq 2.6$	Estudio cruzado CTOG de 5 horas con carga de 75 g Minuto -10 se les proporcionaba 60 ml de agua simple y en otra visita con 60 ml de agua con 48 mg de sucralosa	Glucosa Insulina GLP-1 GIP Glucagón Péptido-C Sensibilidad a la insulina Respuesta pancreática Eliminación de insulina	Consumo de sucralosa generó: Mayores concentraciones en algunos tiempos para glucosa, insulina y péptido-C ( $p<0.004$ ) $20 \pm 8\%$ mayor AUC incremental de insulina ( $p<0.03$ ) Disminución del $7 \pm 4\%$ en la eliminación de insulina ( $p=0.04$ ) Disminución del $23 \pm 20\%$ en la sensibilidad a la insulina ( $p=0.01$ ) No hubo diferencias en GLP-1, GIP, glucagón y respuesta pancreática
11	Temizkan S, et al. 2015 (44)	8 individuos con DM2 de reciente diagnóstico sin tratamiento farmacológico con edad de $51.5 \pm 9.2$ años e IMC de $33.7 \pm 5.4$ kg/m <sup>2</sup> 8 individuos aparentemente sanos con edad de $45.0 \pm 4.1$ años e IMC de $30.3 \pm 4.5$ kg/m <sup>2</sup>	Estudio cruzado 3 visitas: CTOG de dos horas con carga de 75 g de glucosa 3 visitas: minuto -15 ingestión de 200 ml de agua simple sola o con 24 mg de sucralosa o 72 mg de aspartame	Glucosa Insulina GLP-1 Péptido-C	En sujetos sanos: consumo de sucralosa vs agua generó menor AUC de glucosa ( $p=0.002$ ) y mayor AUC de GLP-1 ( $p=0.04$ ) sin cambios en insulina y péptido-C. Consumo de aspartame vs agua no tuvo efectos en las variables En sujetos con DM2 no hubo cambios significativos en los desenlaces ante el consumo de aspartame o sucralosa

12	Gallagher C, et al. 2016 (80)	27 individuos con promedio de edad de 44 años y IMC de 17.5 a 36.2 kg/m <sup>2</sup>	Estudio cruzado 3 visitas aleatoriamente: consumo de muffins que contenían: 52 g de fructosa o 65 g de sacarosa o 0.1 g de sucralosa con una carga total de 66 g de grasa. Muestras sanguíneas fueron recolectadas en el minuto 0 de la curva y cada 30 minutos hasta completar las 4 horas.	Glucosa Insulina Triglicéridos	El consumo de los muffins con fructosa tuvo menor impacto en las concentraciones de glucosa (AUC incremental) e insulina vs la sacarosa o sucralosa ( $p<0.05$ ). Los muffins con sucralosa generaron la misma respuesta en la glucemia e insulinemia que la sacarosa a pesar de la reducción en el aporte de azúcares.
13	Sylvestsky AC, et al. 2016 (47)	61 individuos sanos de 18 a 45 años de edad divididos en dos brazos: Brazo 1= 30 sujetos, el 46% tenía sobrepeso u obesidad Brazo 2= 31 sujetos, el 42% tenía sobrepeso u obesidad Hubo diferencias ( $p<0.01$ ) en el consumo habitual de bebidas con ENN entre los grupos	Estudio cruzado Brazo 1= 4 visitas aleatoriamente: 355 ml de agua con 0, 68, 170 o 250 mg de sucralosa 10 minutos antes de una CTOG. Brazo 2= 4 visitas aleatoriamente: 355 ml de agua carbonatada o refresco de dieta sabor cola sin cafeína con 68 mg de sucralosa y 41 mg de acesulfame-K o refresco de dieta sabor limón sin cafeína 18 mg de sucralosa, 18 mg de acesulfame-K y 57 mg de aspartame o agua carbonatada con 68 mg de sucralosa y 41 mg de acesulfame-K 10 minutos antes de una CTOG. Muestras recolectadas a los 0, 10, 20, 30, 60, 90 y 120 minutos.	Glucosa Insulina GLP-1 GIP Hambre Saciedad Vaciamiento gástrico Absorción de glucosa	No se encontró ningún efecto en el brazo 1 del estudio. En comparación con el agua carbonatada sola, el refresco de dieta sabor cola incrementó el AUC de GLP-1 ( $1142.9 \pm 702.8$ vs $1274.5 \pm 781.8$ pmol/L/120 min; $p=0.04$ ); el refresco de dieta sabor limón sólo mostró una tendencia en el mismo efecto ( $1268.5 \pm 739.7$ pmol/L/120 min; $p=0.07$ ). El refresco de dieta sabor cola mostró tendencia a aumentar las concentraciones de GIP ( $p=0.07$ ). Tanto el pico como el AUC en la insulina fue 17 a 25% mayor con las 3 intervenciones del brazo 2 vs control sin llegar a la significancia estadística. Sin diferencia en las demás variables.
14	Grotz VL, et al. 2017 (81)	48 hombres sanos, IMC de 18.2-27.2 kg/m <sup>2</sup> , normoglucémicos y con bajo consumo de alcohol.	Estudio paralelo Grupo de intervención (25 hombres) recibió cápsulas con 333 mg de sucralosa (3 veces al día). Grupo control (23 hombres) recibió cápsulas con 333 mg de celulosa (3 veces al día). CTOG en el estado basal y a las 12 semanas. Muestras recolectadas a los 0, 30, 60 y 120 minutos.	Glucosa Insulina Péptido-C HbA1c	No se encontraron diferencias significativas en ninguna de las variables estudiadas entre los grupos.

15	Lertrit A, et al. 2018 (45)	15 individuos sanos (11 mujeres, IMC de $23.1 \pm 3$ kg/m <sup>2</sup> , no fumadores y edad de $31.9 \pm 10$ años. El 46.7% de los participantes tenía sobrepeso u obesidad.	Estudio cruzado Consumo durante 4 semanas de cápsulas con 200 mg de sucralosa en la mañana o cápsulas vacías. El periodo de lavado fue de una semana. Antes de la CTOG basal y final se ingirió una cápsula del tratamiento correspondiente. Recolección de muestras a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos. Al otro día se hizo IVGTT de 10 minutos para evaluar respuesta aguda de insulina.	Glucosa Insulina GLP-1 Sensibilidad a la insulina (Índice de Matsuda y HOMA-%S) HOMA-IR HOMA-%B Respuesta pancreática aguda	La respuesta pancreática aguda con la IVGTT fue menor con el consumo de sucralosa ( $58.9 \pm 48.61$ vs $69.94 \pm 73.81$ $\mu$ U/ml; $p<0.01$ ). Sin embargo, en la CTOG el HOMA-%B y el índice insulinogénico fueron mayores con el consumo de sucralosa ( $p<0.01$ ). La sensibilidad a la insulina disminuyó con el uso de sucralosa (índice de Matsuda $4.69 \pm 1.67$ vs $5.31 \pm 2.56$ ; $p<0.01$ ) y se observó una mayor AUC de GLP-1 ( $23.16 \pm 18.86$ vs $18.5 \pm 22.22$ pmol/L/120 min; $p<0.01$ ).
16	Romo-Romo A, et al. 2018 (46)	66 individuos sanos con mediana de edad de 23 años, todos con normopeso, sin presencia de diabetes o prediabetes y bajo consumo habitual de ENN.	Estudio paralelo abierto controlado Grupo de intervención (33 individuos) recibió el 15% de la IDA de sucralosa ( $\approx 140$ mg/día) durante 14 días en forma de sobres comerciales. Grupo control (33 individuos) no recibieron intervención alguna. A ambos grupos se les realizaron las mismas pruebas (IVGTT de 3 horas basal y final) y se les pidió no modificar su peso ni hábitos de alimentación y actividad física.	Sensibilidad a la insulina Respuesta pancreática aguda Índice de disposición Efectividad de la glucosa	Disminución significativa de la sensibilidad a la insulina en el grupo de sucralosa (5.8 vs 4.9; $p<0.01$ ) y en su porcentaje de cambio entre los grupos (-17.7% vs -2.8%; $p=0.04$ ). La respuesta pancreática se incrementó significativamente con el consumo de sucralosa en el análisis por protocolo (577 vs 671; $p=0.04$ ), pero no alcanzó la significancia estadística el porcentaje de cambio entre grupos ( $p=0.16$ ). Sin cambios en los demás parámetros.
17	Thomson P, et al. 2019 (82)	34 hombres con edad de 18 a 50 años e IMC de 20 a 30 kg/m <sup>2</sup> sin tratamiento farmacológico alguno. Se aleatorizaron 17 sujetos en cada grupo.	Estudio paralelo doble ciego controlado con placebo. Se realizó una CTOG con carga de 75 g de forma basal y final. Se recolectaron muestras de sangre durante la curva en los minutos -10, 0, 30, 60, 90 y 120. Durante 7 días los participantes consumieron 3 cápsulas al día con 260 mg de sucralosa cada una o cápsulas de placebo (carbonato de calcio). La dosis aproximada fue de 75% de la IDA de sucralosa.	Glucosa Insulina HOMA-IR Microbiota intestinal	La intervención no generó cambios estadísticamente significativos en la respuesta glucémica e insulinémica de los participantes, así como en el HOMA-IR o en la composición de la microbiota intestinal a nivel de phylum ( $p<0.05$ ).

18	Ahmad SY, et al. 2019 (83)	17 participantes (10 mujeres y 7 hombres) con edad de $24 \pm 6.8$ años, IMC de $22.9 \pm 2.5$ kg/m <sup>2</sup> , sin glucosa alterada en ayuno y habitualmente no consumidores de ENN.	Estudio cruzado doble ciego Se aleatorizaron a los participantes para consumir bebidas (1000 ml de agua sabor limón) con 425 mg de aspartame o 136 mg de sucralosa diario durante 2 semanas. Se llevó a cabo un periodo de lavado de 4 semanas entre las intervenciones. Se les pidió que no modificaran su dieta ni actividad física. No se tuvo un grupo control. Se hicieron CTOG con carga de 75 g al inicio y final de cada periodo de intervención tomando muestras en los minutos 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120.	Glucosa Insulina GLP-1 activo Leptina HOMA-IR HOMA-%B HOMA-%S	No se encontraron cambios significativos en el AUC de glucosa, insulina, GLP-1 activo y leptina tanto con el consumo de aspartame como con sucralosa en comparación con el valor basal ( $p<0.05$ ), a pesar de que se observó un incremento en la concentración de insulina del 19.8% y del 31.9% para la sucralosa ( $p=0.38$ ) y el aspartame ( $p=0.16$ ), respectivamente. No se observaron modificaciones de la sensibilidad a la insulina o función de célula beta con el consumo de los ENN en comparación con los valores basales.
19	Nichol AD, et al. 2019 (68)	10 individuos normopeso y 11 con obesidad, todos sin diabetes, sin resistencia a la insulina (HOMA2-IR <3) y con un bajo consumo habitual de ENN. El 30% de los sujetos con normopeso y el 45% de los sujetos con obesidad tenían prediabetes.	Estudio cruzado 3 visitas separadas por una semana: se realizaron CTOG con previa infusión de trazadores (bolo inicial de 22 $\mu$ mol/kg e infusión continua de 0.22 $\mu$ mol/kg•min durante toda la curva de [6,6-2H2] glucosa). A las 3.5 horas de la infusión de trazadores se administraron 75 g de glucosa vía oral con 1.5 g de [U-13C6] glucosa. Diez minutos antes de la CTOG consumieron 60 ml de agua simple o con 48 mg de sucralosa o una "alimentación simulada" con la misma cantidad de sucralosa (pasar la solución por la boca sin deglutar por 5 segundos y escupir). Se tomaron muestras en los minutos 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, y cada 20 minutos hasta completar 4 horas de la CTOG en base al modelo mínimo de glucosa oral.	Glucosa Insulina Péptido C GIP Sensibilidad a la insulina Respuesta pancreática Eliminación de insulina Tasa de aparición de glucosa	La ingestión de sucralosa generó un AUC $30 \pm 10\%$ mayor de glucosa en comparación con el consumo agua en ambos grupos ( $p=0.03$ ). La respuesta pancreática se disminuyó a los 20-40 minutos en los sujetos normopeso pero se incrementó a los 90-120 minutos en los sujetos con obesidad ( $p<0.05$ ). La "alimentación simulada" con sucralosa disminuyó las concentraciones de insulina en ambos grupos a los 60 minutos ( $p<0.05$ ). La ingestión de sucralosa incrementó en un $52 \pm 20\%$ la sensibilidad a la insulina en los sujetos con peso normal ( $p<0.05$ ) pero no se modificó en los sujetos con obesidad. Los participantes con obesidad mostraron concentraciones plasmáticas más altas de sucralosa ( $p<0.01$ ) durante la última hora de la CTOG.

20	Dalenberg JR, et al. 2020 (69)	Participantes con IMC <30 kg/m <sup>2</sup> y consumo de ENN no mayor a 3 veces al mes fueron reclutados. Experimento 1: 39 sujetos con edad de 20 a 45 años, 13 en cada grupo Experimento 2: 11 adolescentes de 13 a 17 años de edad. Experimento 3: 15 sujetos con edad de 20 a 45 años	Estudio paralelo doble ciego Experimento 1: se les realizaron CTOG de 2 horas y consumieron 7 bebidas de 355 ml en días separados durante 2 semanas divididos en 3 grupos (60 mg de sucralosa o 30.38 g de sacarosa o 60 mg de sucralosa + 31.83 g de maltodextrinas). Experimento 2: mismos procedimientos que el experimento 1 pero sin CTOG, sólo se tomó una muestra en ayuno para calcular HOMA-IR. Experimento 3: mismos procedimientos que el experimento 1 pero sólo un grupo que consumió las bebidas con 31.83 g de maltodextrinas (sin sucralosa).	Glucosa Insulina HOMA-IR	Se observó un incremento en la primera fase de secreción de insulina ( $p=0.03$ ) y en los 120 min del AUC de insulina ( $p<0.01$ ) después del consumo de las bebidas con sucralosa + maltodextrinas, no de sólo sucralosa en el experimento 1. El experimento 2 se tuvo que suspender en el sujeto 11 ya que el incremento en el HOMA-IR que estaban presentando los participantes asignados al consumo de las bebidas de sucralosa + maltodextrinas fue muy considerable (de <3.5 a >12.9). En el experimento 3 se confirmó que el efecto en la insulinemia no fue por las maltodextrinas sino por la combinación del ENN con los carbohidratos al momento de su consumo. En general, no se observaron cambios en la glucosa.
21	Bueno-Hernández N, et al. 2020 (70)	Participantes con HOMA-IR <3.8 con edades de 18 a 35 años. Grupo 1 (n=46): IMC de $24.1 \pm 2.9$ kg/m <sup>2</sup> , edad de $22.9 \pm 3.5$ años, 16 pérdidas de seguimiento. Grupo 2 (n=46): IMC de $23.8 \pm 3.3$ kg/m <sup>2</sup> , edad de $22.6 \pm 2.8$ años, 15 pérdidas de seguimiento. Grupo 3 (n=45): IMC de $24.2 \pm 3.8$ kg/m <sup>2</sup> , edad de $22.0 \pm 3.2$ años, 11 pérdidas de seguimiento.	Estudio paralelo aleatorizado CTOG de 2 horas con carga de 75 g realizadas en las semanas 0 y 10 de intervención, toma de muestra en los minutos -15, 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 minutos. Ingestión 15 minutos antes de la CTOG la bebida en estudio según el grupo asignado. Grupo 1: consumo diario de 60 ml de agua con 48 mg de sucralosa. Grupo 2: consumo diario de 60 ml de agua con 96 mg de sucralosa. Grupo 3: consumo diario de 60 ml de agua simple. Control de la dieta con registros de consumo de alimentos de 7 días.	Glucosa Insulina HbA1c Índice de Matsuda	Al finalizar la intervención (semana 10) el grupo que consumió 48 mg/d de sucralosa presentó vs la CTOG basal incrementos en la concentración de insulina en los tiempos 0, 30, 105 y 120 min ( $p\leq0.05$ ); al igual que mayores concentraciones de glucosa en los tiempos -15, 0 y 120 min ( $p<0.05$ ). En ambos grupos de sucralosa (48 y 96 mg/d) se observó mayor AUC de insulina en la CTOG post-intervención ( $p<0.02$ ). Se encontró una reducción significativa en el índice de Matsuda al final de la intervención en el grupo que consumió los 48 mg/d de sucralosa ( $p=0.01$ ). Incremento de HbA1c en el grupo de 96 mg/d de sucralosa ( $p=0.03$ ).

22	Romo-Romo A, et al. 2020 (71)	60 individuos (aleatorizados 30 en el grupo de sucralosa y 30 en el grupo control) sanos con mediana de edad de 23 años, todos con normopeso (IMC promedio de $21.6 \pm 1.7$ kg/m <sup>2</sup> ), sin presencia de diabetes o prediabetes y bajo consumo habitual de ENN.	Estudio paralelo abierto controlado Grupo de intervención (33 individuos) recibió el 15% de la IDA de sucralosa ( $\approx 140$ mg/día) durante 14 días en forma de sobres comerciales. Grupo control (33 individuos) no recibieron intervención alguna. Se recolectó una muestra en ayuno en el estado basal, al finalizar la intervención y a la semana siguiente post-intervención. Se les pidió no modificar su peso ni hábitos de alimentación y actividad física.	Glucosa Insulina HOMA1-IR HOMA2-IR GLP-1 Ghrelina Leptina PYY	La sucralosa no generó ningún efecto en las concentraciones plasmáticas en ayuno de las hormonas reguladoras del apetito (GLP-1, ghrelina, leptina, PYY). El grupo de intervención generó un incremento en el HOMA2-IR ( $p=0.04$ ) y una tendencia a incrementar la insulina en ayuno ( $p=0.06$ ) y el HOMA1-IR ( $p=0.08$ ) a través del tiempo, mostrando una diferencia significativa ( $p<0.05$ ) vs el grupo control en la visita post-intervención en los valores de insulina en ayuno, HOMA1-IR y HOMA2-IR.
23	Suez J, et al. 2022 (84)	120 individuos aleatorizados a uno de los 6 grupos (n=20 por grupo), se incluyeron hombres y mujeres de 18 a 70 años de edad con buena salud metabólica aparente, que no hubieran consumido ENN en los 6 meses previos al estudio. Se excluyeron a personas con diabetes e IMC <18 y >28 kg/m <sup>2</sup> .	Estudio paralelo En cada intervención con ENN consumieron 6 sobres de sustituto de azúcar al día durante 14 días, lo que correspondía a 180 mg/día de estevia (75% de la IDA), 102 mg/día de sucralosa (34% de la IDA), 180 mg/día de sacarina (20% de la IDA) y 240 mg/día de aspartame (8% de la IDA). Los grupos de referencia fueron el consumo de glucosa (misma cantidad que contenían los 6 sobres de sustituto como vehículo para los ENN) y otro grupo no recibió intervención (sin suplementación). Se realizaron en casa 9 CTOG con carga de 50 g de glucosa utilizando sensores de monitoreo continuo de glucosa (2 previo a la intervención, 5 durante la intervención y 2 post-intervención).	Glucosa Insulina GLP-1	El consumo de sucralosa generó mayor AUC incremental a la mitad y al final del periodo de intervención en comparación con su valor basal ( $p<0.05$ ) y con las AUC incrementales del grupo de glucosa ( $p<0.05$ ) y el grupo sin suplementación ( $p<0.01$ ). El único grupo que mostró un efecto similar fue el de sacarina. No se encontraron cambios significativos en ninguno de los grupos de ENN en las concentraciones de insulina y GLP-1. Se hicieron trasplantes fecales de 4 participantes que mostraron la mayor respuesta glucémica al consumo de sucralosa a ratones y se observó mayor AUC en los animales al día 6 del trasplante.

ENN: edulcorantes no nutritivos, IMC: índice de masa corporal, HbA1c: hemoglobina glucosilada, HDL: lipoproteínas de alta densidad, LDL: lipoproteínas de baja densidad, DM1: diabetes mellitus tipo 1, DM2: diabetes mellitus tipo 2, GLP-1: péptido similar al glucagón tipo 1, GIP: péptido insulinotrópico dependiente de glucosa, CCK: colecistoquinina, PYY: péptido tirosina tirosina, VAS: escalas visuales análogas, CTOG: curva de tolerancia oral a la glucosa, AUC: área bajo la curva, IDA: ingesta diaria admisible, HOMA-IR: homeostatic model assessment for insulin resistance, HOMA-%S: porcentaje de sensibilidad a la insulina, HOMA-%B: porcentaje de función de célula beta, IVGTT: prueba de tolerancia a la glucosa intravenosa con muestreo frecuente.

**Cuadro de Análisis de la Literatura 2**  
**Comparación de los hallazgos y metodología de los ensayos clínicos.**

	Número de estudio																						
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Glucosa																							
Insulina																							
HOMA-IR																							
HOMA-%B																							
GLP-1																							
GIP																							
HbA1c																							
Péptido C																							
Glucagón																							
PYY																							
Ghrelina																							
Leptina																							
Sensibilidad a la insulina																							
Respuesta pancreática																							
Eliminación de insulina																							
Aparición de glucosa																							
Absorción de glucosa																							
Aspartame																							
Acesulfame-K																							
Sucralosa																							
Exposición aguda																							
Estudio cruzado																							
Han encontrado efectos*																							
DM1																							
DM2																							
Sobrepeso/Obesidad																							
Sanos																							

HOMA-IR: homeostatic model assessment for insulin resistance, HOMA-%B: porcentaje de célula beta, GLP-1: péptido similar al glucagón tipo 1, GIP: péptido insulinotrópico dependiente de glucosa, HbA1c: hemoglobina glucosilada, PYY: péptido tirosina tirosina, VAS: escalas visuales análogas (por sus siglas en inglés: visual analogue scales), DM1: diabetes mellitus tipo 1, DM2: diabetes mellitus tipo 2. \*Este apartado se refiere a los resultados estadísticamente significativos de los edulcorantes no nutritivos en algunas de las variables estudiadas, sin que esto signifique que son efectos negativos o positivos.

Respecto al impacto de la sucralosa en la microbiota intestinal, los estudios disponibles incluyen siete experimentos en animales, dos *in vitro* y tres estudios en humanos, los cuales se muestran en el cuadro de análisis de la literatura 3. Los resultados de estas investigaciones sugieren que los cambios inducidos en la microbiota intestinal por los ENN podrían causar efectos deletéreos en el organismo.

Abou-Donia, et al. [2008] mostró en ratas que la exposición a sucralosa (a través de sobres comerciales de Splenda®) durante 12 semanas generaba un decremento significativo en el total de anaerobios, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium* y el total de bacterias aeróbicas sin tener un efecto en las enterobacterias. Después de un periodo de recuperación de 12 semanas, solamente el total de anaerobios y el género *Bifidobacterium* continuaban significativamente disminuidas. Se concluyó que la sucralosa produce una reducción de la microbiota fecal benéfica e incrementa considerablemente el pH fecal (23).

Suez, et al. [2014] encontró que ante una exposición a altas dosis de sacarina, sucralosa y aspartame durante 11 semanas en ratones, se elevaban significativamente las concentraciones de glucosa. Posterior a un tratamiento de 4 semanas con un antibiótico de amplio espectro, se observó que la intolerancia a la glucosa fue revertida en los ratones. Sin embargo, utilizó sobres comerciales de los ENN (5% de la sustancia y 95% de glucosa), no especificó la dosis de sucralosa que consumieron los ratones o los cambios en la microbiota intestinal que generó este ENN, ya que sólo se analizó con sacarina, la cual mostró el mayor impacto en la glucemia. Aunado a estos experimentos, realizó un estudio en 7 individuos que consumieron el 100% de la IDA de sacarina durante 7 días, mostrando que 4 participantes tuvieron el mismo efecto de incrementar significativamente sus concentraciones de glucosa. Se realizaron trasplantes fecales de los sujetos respondedores a ratones que no habían estado expuestos a los ENN, observando que a los pocos días se elevaban de igual manera las concentraciones de glucosa en los animales transplantados. Los cambios observados en la microbiota intestinal incluyeron un incremento significativo en *Bacteroides fragilis* y *Weissella cibaria* con

una disminución de *Candidatus Arthromitus*, sugiriendo que los ENN modifican la microbiota intestinal de forma que perjudica la tolerancia a la glucosa (21).

Otros estudios como los de Uebenso, et al. (85), Bian, et al. (24) y Wang, et al. (86) han demostrado que la sucralosa sí puede modificar considerablemente la microbiota intestinal e inclusive tiene un efecto bacteriostático sobre *Escherichia coli*. Además de los cambios en la microbiota, el aumento provocado por el consumo de sucralosa en el LPS, iNOS y MMP-2 da un mayor entendimiento de la fisiopatología de la resistencia a la insulina inducida por este ENN. La MMP-2 se asocia fuertemente con un incremento en la respuesta inflamatoria al activar el TNF-α y la IL-1β, además de que el iNOS también regula genes proinflamatorios que contribuyen significativamente a producir daño hepático inflamatorio. El aumento de la iNOS y la MMP-2 que se encontró en el hígado de los ratones tratados con sucralosa, se ha asociado con tumores hepáticos, fibrosis e infecciones virales crónicas (24). Todas estas alteraciones producidas indirectamente por la sucralosa (ya que la mayor parte de esta sustancia no se absorbe y pasa intacta a través de todo el tracto gastrointestinal), son a través de la microbiota intestinal y de la promoción de un estado proinflamatorio, que probablemente genera una mayor activación de la fosforilación de la serina/treonina quinasa, inactivando la vía de la PI3K y generando resistencia a la insulina. El impacto de la dieta y el estilo de vida sobre la microbiota intestinal no está bien definido, pueden tardar meses en observarse cambios considerables en el microbioma inducidos por la dieta (48,60).

Recientemente se publicó un estudio en humanos realizado por Thomson, et al. [2019] (82) en donde evaluó el efecto del consumo de 780 mg de sucralosa al día a través de cápsulas vs placebo (carbonato de calcio) durante 7 días. No se encontraron cambios estadísticamente significativos en la microbiota intestinal, sin embargo, sólo se analizó la composición bacteriana hasta nivel de *phylum*, por lo que probablemente no se detectaron cambios más sensibles a nivel de géneros y especies de bacterias, además de que el periodo de exposición fue muy corto para observar cambios en este desenlace.

Los resultados de este último estudio concuerdan con lo reportado en otro ensayo clínico realizado por Ahmad, et al. [2020] (87) en donde a 17 personas se les dio durante 14 días el 20% de la IDA para sucralosa (136 mg aproximadamente). No se reportó ningún cambio en las proporciones relativas de las familias y géneros de bacterias más abundantes ni en la estructura de la comunidad de la microbiota ni en el índice de Shannon. Sin embargo, fue un estudio cruzado en donde también pasaron por un tratamiento con el 14% de la IDA para aspartame (425 mg aproximadamente).

Finalmente, un estudio en ratones realizado por Sánchez-Tapia, et al. [2020] (88), demostró que el consumo de sucralosa durante 4 meses (un grupo con dieta estándar y un grupo con dieta alta en grasa, sucralosa en concentración al 1.5% del agua que recibían *ad libitum*) aumentaba significativamente 3 especies del género *Bacteroides* (*fragilis*, *uniformis* y *caccae*) y una disminución significativa del género *Bifidobacterium*. De igual forma, incrementó significativamente la concentración de marcadores inflamatorios como LPS y TNF- $\alpha$ , además de generar mayor AUC de glucosa e insulina, disminución de marcadores antiinflamatorios como IL-10 y la IgA (inmunoglobulina A) secretora, incremento en la concentración de  $\beta$ -hidroxibutirato y reducción del cociente respiratorio (generando un estado de cetosis).

De acuerdo a esta evidencia revisada, no se conoce con certeza el efecto que podría tener en los humanos el consumo de ENN como la sucralosa, los hallazgos de los estudios publicados han sido variados y poco concluyentes. El estudio de la microbiota intestinal en los humanos representa un gran reto al no poder controlarse de forma tan estricta como en los animales todos los factores que pueden causar alteraciones en la microbiota intestinal. Además, los ensayos clínicos realizados hasta el momento han mostrado algunas deficiencias metodológicas que podrían influir en los resultados y no han sido consistentes en confirmar los efectos deletéreos que se han descrito en los estudios en modelos animales o *in vitro*.

### Cuadro de Análisis de la Literatura 3

#### Estudios que evalúan el efecto de la sucralosa en la microbiota intestinal.

Autor y año	Edulcorante	Tipo de estudio	Dosis	Tipo de dieta	Resultados en microbiota	Otros resultados	Significancia clínica
Abou-Donia MB, et al. 2008 (23)	Sucralosa	Modelo animal (ratones macho Sprague-Dawley)	*4 dosis: 1.1, 3.3, 5.5 y 11 mg/kg/d a través de sobres comerciales (Splenda®)	*Dieta normal certificada para roedores y agua <i>ad libitum</i>	A las 12 semanas se observó: *Disminución significativa del total de anaerobios (49.8%), bifidobacterias (36.9%), lactobacilos (39.1%), <i>Bacteroides</i> (67.5%), clostridiales y el total de bacterias aeróbicas con dosis altas (51.2 a 67.8%)	*Incremento del pH fecal, glicoproteína-P (gp-P) y de proteínas relacionadas con el citocromo P450 (CYP3A4 y CYP2D1)	*Creación de un ambiente favorable para bacterias patógenas
Rettig S, et al. 2014 (89)	Sucralosa	<i>In vitro</i>	*1.1 a 11 mg/kg/d	*No aplica	*Presenta pequeño efecto en dos Firmicutes: <i>E. Faecalis</i> y <i>C. Sordellii</i> . *Inhibición del crecimiento de <i>Bacteroides</i> ( <i>B. Fragilis</i> y <i>B. Uniformis</i> ) dependiente de la concentración	---	*Sucralosa tiene la habilidad de alterar la microbiota intestinal
Suez J, et al. 2014 (21)	Sucralosa Aspartame Sacarina	Modelo animal (ratones delgados C57BL/6 de 10 semanas)	*Sin especificar. *En el experimento 2 dieron 0.1 mg/ml de sacarina, equivalente a la IDA del JECFA (5 mg/kg/d)	*Sobres comerciales en el agua (5% sucralosa y 95% glucosa). *Experimento 2: dieta alta en grasa (60% Kcal) o dieta estándar	Sólo se analizó con la sacarina al ser el ENN que mostró mayor efecto a las 11 semanas: *Incremento de género <i>Bacteroides</i> y orden Clostridiales. *Disminución de <i>Lactobacillus reuteri</i> y otros miembros del orden Clostridiales. *Sobrerrepresentación de <i>Bacteroides vulgatus</i> y subrepresentación de <i>Akkermansia muciniphila</i>	*Incremento significativo de las concentraciones de glucosa para los 3 ENN que se abolió con el uso de antibióticos de amplio espectro	*Alteraciones en la tolerancia a la glucosa

Uebano T, et al. 2017 (85)	Sucralosa Acesulfame-K	Modelo animal (ratones C57BL/6J de 8 semanas)	*Dosis baja: 1.5 mg/kg/d *Dosis alta: 15 mg/kg/d	*Dieta estándar para roedor	A las 8 semanas se observó con sucralosa: *Reducción de la cantidad de <i>Clostridium cluster XIVa</i> en dosis-respuesta. *Incremento en la concentración de butirato	*Incremento en la concentración de colesterol hepático y ácido cólico	*No especificada
Bian X, et al. 2017 (24)	Sucralosa	Modelo animal (ratones macho C57BL/6J de 8 semanas)	*0.1 mg/ml equivalente a la IDA establecida por la FDA (5 mg/kg/d)	*Dieta estándar para roedor y agua <i>ad libitum</i>	A los 3 y 6 meses se observaron cambio significativos en: * <i>Turicibacteraceae Turicibacter, Lachnospiraceae Ruminococcus, Ruminococcaceae Ruminococcus, Verrucomicrobiaceae Akkermansia, Staphylococcaceae Staphylococcus, Streptococcaceae Streptococcus, Dehalobacteriaceae Dehalobacterium, Lachnospiraceae Anaerostipes, Lachnospiraceae Roseburia.</i> *Miembros no clasificados de las familias <i>Clostridiaceae, Christensenellaceae, Peptostreptococcaceae, Erysipelotrichaceae</i> y el orden <i>Bacillales</i>	*Aumento de lipopolisacárido (LPS), síntesis de flagelos, síntesis de fimbriae. *Aumento de metaloproteinasa de matriz 2 y iNOS (óxido nítrico sintetasa inducible)	*Puede incrementar el riesgo de presentar inflamación en tejidos mediante los cambios en la microbiota intestinal
Wang QP, et al. 2018 (86)	Sucralosa Acesulfame-K Sacarina Rebaudiósido A (estevia)	<i>In vitro</i> y modelo animal (ratones C57BL/6 de 5 semanas)	*Modelo animal con adición de sucralosa al 2.5% en el agua de los animales <i>ad libitum</i>	*Dieta estándar y dieta alta en grasa (60% Kcal) <i>ad libitum</i>	* <i>In vitro</i> todos los ENN mostraron un fuerte efecto bacteriostático sobre <i>Escherichia coli</i> . *A las 8 semanas se observó en el modelo animal que la sucralosa incrementó en general los Firmicutes al añadirse a ambas dietas y hubo un incremento en <i>Bifidobacterium</i> con la dieta estándar + sucralosa	*Dieta estándar + sucralosa mostró menor peso corporal y aumento en la frecuencia de evacuaciones sin cambios en la ingestión de alimento, calorías o agua	*Los ENN tienen efectos bacteriostáticos directos y la sucralosa puede cambiar la microbiota intestinal <i>in vivo</i>

Thomson P, et al. 2019 (82)	Sucralosa	Humanos 34 hombres con IMC 23.8 kg/m <sup>2</sup> grupo sucralosa y 25.7 kg/m <sup>2</sup> placebo (P=0.04)	*3 cápsulas al día con 260 mg de sucralosa en cada una (total de 780 mg/día) durante 7 días	*Los participantes no registraron cambios en su patrón de alimentación habitual	*No se encontraron cambios significativos en la microbiota intestinal con el consumo de sucralosa vs placebo (carbonato de calcio), sin embargo, la composición bacteriana se analizó hasta nivel de <i>phylum</i> , por lo que no se pudieron detectar cambios a nivel de géneros y especies de bacterias	*No hubo cambios en glucosa, insulina o HOMA-IR	*Ninguna, el tiempo de exposición fue corto
Ahmad SY, et al. 2020 (87)	Sucralosa Aspartame	Humanos 17 sujetos edad 18-45 años, IMC 20-25 kg/m <sup>2</sup>	*20% IDA sucralosa (136 mg) y 14% IDA aspartame (425 mg) por 14 días *Estudio cruzado con 4 semanas de lavado	*Misma dieta pero restringieron ENN, cafeína, alcohol, probióticos y AINEs	*No se encontraron cambios estadísticamente significativos con ambos ENN en las proporciones relativas de las familias y géneros de bacterias más abundantes ni en la estructura de la comunidad de la microbiota. *No se afectó el índice de Shannon para evaluar la diversidad bacteriana	*No se observaron cambios en la producción de ácidos grasos de cadena corta	*Sugiere que el consumo de estos ENN a una dosis habitual tiene efectos mínimos en la microbiota intestinal
Sánchez-Tapia, et al. 2020 (88)	Sucralosa Estevia Sacarosa Fructosa Glucosa Azúcar morena Miel	Modelo animal (ratas macho Wistar de 5 semanas)	*El agua estaba al 2.5% de estevia, 1.5% de sucralosa y al 10% de los demás endulzantes *4 meses	*Todos los edulcorantes con un grupo en dieta estándar y otro grupo con dieta alta en grasa + agua <i>ad libitum</i>	*Sucralosa mostró un aumento significativo en 3 especies del género <i>Bacteroides</i> ( <i>fragilis</i> , <i>uniformis</i> y <i>caccae</i> ) y una disminución significativa del género <i>Bifidobacterium</i> *Miel y glucósidos de estevia aumentaron <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> aún con la dieta alta en grasa	*Sucralosa aumentó LPS y TNF- $\alpha$ , $\beta$ -hidroxibutirato, glucosa e insulina, a la vez que disminuyó IL-10, IgA secretora y el cociente respiratorio	*Sucralosa es capaz de modificar la microbiota generando un estado inflamatorio y modificando el metabolismo de la glucosa
Zheng Z, et al. 2022 (90)	Sucralosa	Modelo animal (ratones C57BL/6 de 28 días)	*4 dosis hasta llegar a la IDA de 5 mg/kg (0.3 mg/ml) por 16 semanas	*Dieta estándar para roedor. *El grupo control recibió agua destilada	*Sucralosa disminuyó géneros probióticos <i>Lachnoclostridium</i> y <i>Lachnospiraceae</i> , así como un incremento de patógenos <i>Allobaculum</i> , <i>Tenacibaculum</i> , <i>Ruegeria</i> , <i>Staphylococcus</i>	*Sucralosa disminuyó el índice de Shannon de biodiversidad bacteriana en la dosis mayor	*Aumentaron bacterias que se han correlacionado positivamente con diabetes

Méndez-García LA, et al. 2022 (91)	Sucralosa	Humanos 20 sujetos asignados a cada grupo (12 mujeres y 8 hombres), edad $22.7 \pm 3.7$ años, IMC $24.8 \pm 4.5 \text{ kg/m}^2$	*Agua simple o agua con 48 mg/d de sucralosa durante 10 semanas *Ensayo clínico abierto paralelo	*Se les prescribió una dieta balanceada de acuerdo a las necesidades de cada participante	*La sucralosa generó un incremento de 3 veces la abundancia relativa de <i>Blautia coccoides</i> y una reducción de 0.66 veces la abundancia de la bacteria probiótica <i>Lactobacillus acidophilus</i>	*El consumo de sucralosa generó un incremento del $32 \pm 5\%$ en el pico de insulina durante la CTOG, así como un aumento del $8 \pm 1.7\%$ mayor AUC de glucosa	*Sucralosa es capaz de modificar la microbiota intestinal y asociarse con alteraciones en el metabolismo de la glucosa
------------------------------------	-----------	--	---	---	---	---	--

IDA: ingesta diaria admisible; JECFA: Comité de Expertos de la FAO y la OMS en Aditivos Alimentarios; ENN: edulcorantes no nutritivos; FDA: U.S. Food and Drug Administration IMC: índice de masa corporal; AINEs: antiinflamatorios no esteroideos; AUC: área bajo la curva.

## **PLANTEAMIENTO 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 (hasta del 80% en personas con diabetes en México) al estar presente en una gran variedad de productos y alimentos procesados, suplementos alimenticios, medicamentos y productos de higiene personal (92).

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. No obstante, los procedimientos de estos estudios han sido heterogéneos en cuanto a la población incluida, tiempo de seguimiento y nivel de exposición a esta sustancia.

Se han propuesto ciertos mecanismos por los que la sucralosa pudiera interferir en las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina, sin embargo, la mayoría de 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 ampliamente las vías fisiológicas por las cuales la sucralosa genera una disminución en la sensibilidad a la insulina.

## **JUSTIFICACIÓN**

Actualmente, no existe ningún estudio que haya evaluado la sensibilidad a la insulina a través de su estándar de oro, el CEH. El utilizar este método a dos fases con diferentes tasas de infusión de insulina y con isótopos estables de glucosa permitirá diferenciar si el efecto se genera a nivel de hígado o de músculo esquelético.

Es necesario evaluar si la secreción de GLP-1 se incrementa de manera significativa después del consumo sucralosa en combinación con un alimento mixto,

ya que sólo se ha demostrado una mayor liberación postprandial de esta incretina después de una CTOG.

Finalmente, las alteraciones en la microbiota intestinal asociadas al consumo de sucralosa han sido solamente observadas en estudios en animales y, de los ensayos clínicos publicados, uno evaluó la composición de la microbiota intestinal hasta el nivel de *phylum* y en general han tenido un periodo corto de exposición (7 y 14 días), además de que no se midieron otros metabolitos asociados a una disbiosis. Por lo tanto, es relevante conocer si este efecto es extrapolable a humanos con un tiempo de exposición más prolongado, con una dosis moderada de sucralosa, evaluando el estado basal de la microbiota intestinal de los participantes y controlando la dieta y el estilo durante la intervención. De igual forma, es necesario conocer si también en humanos se desarrolla el estado proinflamatorio que genera la disbiosis reportada en animales con la medición de los cambios en el LPS y las citocinas proinflamatorias.

La confirmación de estos efectos y la identificación de sus mecanismos en humanos permitirán reconsiderar la seguridad del consumo de este ENN que podría estar ligado a un incremento en el riesgo de desarrollar patologías metabólicas.

### **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Qué efecto tendrá el consumo del 30% de la IDA de sucralosa durante 30 días en el estado de sensibilidad a la insulina en hígado y músculo esquelético en comparación con el placebo en adultos aparentemente sanos?

### **HIPÓTESIS**

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

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

- I. 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***

- I. Determinar el cambio en la sensibilidad a la insulina hepática ante la ingestión de sucralosa en comparación con el placebo.
- II. Determinar el cambio en la sensibilidad a la insulina en músculo esquelético ante la ingestión de sucralosa en comparación con el placebo.

### ***Objetivos Secundarios***

- I. Determinar los cambios en la microbiota intestinal (géneros y especies de bacterias) producidos por la ingestión de sucralosa en comparación con el placebo.
- II. Determinar los cambios en las concentraciones plasmáticas postprandiales de glucosa, insulina, GLP-1, péptido C, ghrelina y PYY ante la ingestión de sucralosa en comparación con el placebo.
- III. Determinar el cambio en las concentraciones de LPS, proteína C reactiva (PCR), IL-6 y TNF- $\alpha$  ante la ingestión de sucralosa en comparación con el placebo.
- IV. Explorar los efectos secundarios reportados ante el consumo de sucralosa en comparación con el placebo.

## **METODOLOGÍA**

### **I. Diseño del estudio**

Ensayo clínico aleatorizado paralelo triple ciego.

El estudio se registró en ClinicalTrials.gov (No. de identificación: NCT04182464).

## **II. Lugar y tiempo de estudio**

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) en las instalaciones de la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas (UIEM). Periodo en el que se realizó el estudio: abril 2019 a julio 2021.

## **III. Tamaño de muestra**

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. (46) que fue del 15%, ya que se asemeja en metodología y desenlaces evaluados. La media y desviación estándar se obtuvieron de los estudios de Conte, et al. (93) y Fabbrini, et al. (94) que evaluaron sensibilidad a la insulina mediante clamp con trazadores en población con normopeso. En la fórmula se utilizó un error  $\alpha$  de 0.05, un poder del 90% y se añadió un 20% al tamaño de muestra para probables pérdidas durante el seguimiento.

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

Por lo tanto se reclutaron a 12 sujetos en cada grupo, teniendo una muestra total de 24 participantes. El grupo de intervención consistió en la toma de cápsulas con sucralosa pura (30% IDA) y el grupo control tomó cápsulas de placebo (almidón de maíz, en la misma cantidad que la sucralosa).

## **IV. Población de estudio**

Personas aparentemente sanas que acuden al INCMNSZ como acompañantes de pacientes, ex participantes de otros protocolos de investigación o población en general que tenga conocimiento de la investigación a través de diversos medios de difusión (página de internet del INCMNSZ, carteles y/o redes sociales).

→Criterios de Selección

❖ Criterios de Inclusión

- a) Ambos géneros.
- b) Tener de 20 a 45 años de edad.
- c) Tener un índice de masa corporal normal ( $\geq 18.5$  y  $< 25 \text{ kg/m}^2$ ).
- d) Presentar un bajo consumo de ENN (cumplir con los criterios que se establecen en el cuadro de operacionalización de variables dentro de la definición de bajo consumo de ENN).
- e) Insulina plasmática en ayuno  $< 12 \mu\text{U/ml}$ .

❖ 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) Tabaquismo.
- f) Presentar algún tipo grave de afección intestinal como enfermedad inflamatoria intestinal, síndromes de malabsorción o resección intestinal.
- g) Presentar alguna enfermedad hepática o renal.
- h) Tener antecedente de cirugía bariátrica.
- i) Embarazo o lactancia.

-Método de aleatorización: se realizó 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 [www.randomization.com](http://www.randomization.com) por un persona externa a la investigación.

-Método de enmascaramiento de la intervención: se utilizaron cápsulas hechas a base de gelatina que fueron rellenadas de sucralosa pura en el grupo de intervención y de almidón de maíz natural en el grupo control. Las cápsulas para ambos grupos tenían la misma apariencia y color; además es una intervención inodora e insabro ya que la disolución y absorción de las cápsulas es a nivel gástrico. En los procedimientos de la visita 3 se explica a profundidad cómo se realizó el cálculo de la dosis establecida de sucralosa o placebo por día.

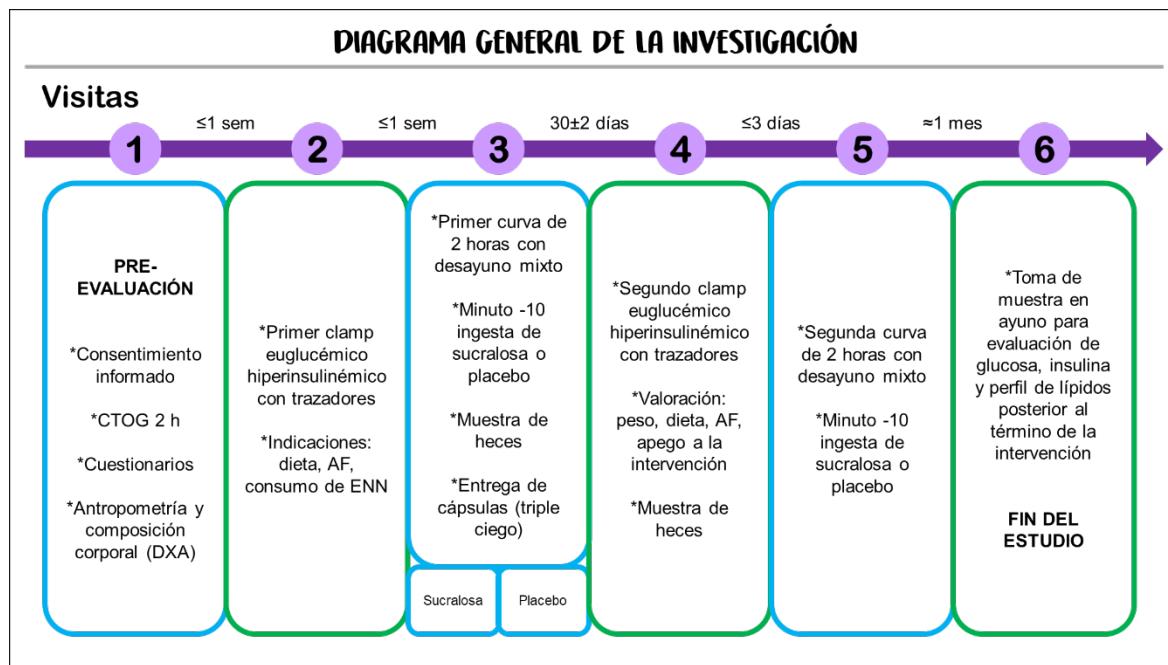
El placebo (almidón de maíz) no debe de generar ningún efecto en el organismo de los participantes del grupo control, puesto que es una fuente natural de carbohidratos y se consumió a una dosis no significativa (menos de 0.5 g por día).

-Método de ocultamiento de la asignación: los frascos que contenían las cápsulas fueron llenados por la misma persona externa a la investigación que realizó la aleatorización. Cada frasco tenía 96 cápsulas de acuerdo al grupo asignado y en la etiqueta sólo se indicó el número de participante establecido de manera consecutiva sin indicar a qué grupo pertenecía. Se realizó el cálculo de 96 cápsulas por frasco a razón de que la dosis de sucralosa o placebo se dividió en 3 tomas durante el día y de que el periodo de intervención tuvo una duración de 30 días con un periodo de ventana de  $\pm$  2 días, por lo que los participantes ingirieron las cápsulas en un rango de 84 a 96 en total.

-Método de muestreo: no probabilístico por conveniencia.

## V. Esquema general de la investigación

A continuación se muestra el diagrama que resume de manera general el proceso que llevó a cabo cada participante durante el estudio y los procedimientos que se realizaron en cada una de las visitas.



## VI. Descripción de los procedimientos del estudio

### a. Visita 1

Se citó al sujeto con un ayuno de 8 a 12 horas con previa invitación y explicación general del protocolo. Se hizo la lectura y descripción completa de la investigación a través de la carta de consentimiento informado (anexo 1) obteniendo la aceptación del participante para su inclusión en el estudio. Se realizó una medición de glucemia capilar y si el valor era <100 mg/dL se procedió a realizar la CTOG con carga de 75 g y dos horas de duración. Se midieron las concentraciones de glucosa en los minutos 0 y 120 de la curva, así como las concentraciones de insulina, triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL (lipoproteínas de alta densidad), colesterol LDL (lipoproteínas de baja densidad), creatinina, ácido úrico, ALT (aspartato aminotransferasa) y AST (alanina aminotransferasa) en el minuto 0. La CTOG se hizo para corroborar que los

participantes no presentaran diabetes mellitus o intolerancia a los carbohidratos, es decir, sólo los sujetos con glucosa sanguínea menor a 140 mg/dL a las dos horas después de la ingestión de los 75 g de glucosa se citaron a la visita 2 de acuerdo a los criterios de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) (95). De igual forma, todos presentaron una concentración de insulina en ayuno <12 µU/ml para continuar en el estudio. Todas las muestras de suero y plasma del estudio se obtuvieron con una centrífuga marca Beckman Coulter modelo SPINCHRON R Centrifuge. La medición de los analitos se realizó con un 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). Para la medición de insulina se utilizó un equipo automatizado Beckman Coulter Access 2.

Además, se llevaron a cabo las siguientes actividades con los participantes en la visita 1, registrándose la información obtenida en el formato de recolección de datos (anexo 2):

- Hoja de datos generales (nombre, edad, sexo, fecha de nacimiento, folio, teléfono, correo electrónico, registro en el INCMNSZ si aplica, enfermedades importantes diagnosticadas o padecidas, antecedentes heredofamiliares de diabetes, medicamentos y/o suplementos que se consuman actualmente).
- Aplicación del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos adaptado a productos del mercado mexicano que contienen ENN (anexo 3) para verificar que los participantes cumplían con los criterios establecidos como “bajo consumo de ENN” (mencionados en el cuadro de operacionalización de variables). Este instrumento fue creado en un estudio previo realizado en México para cuantificar el consumo de ENN (92), teniendo validez de apariencia y de contenido; además, se evaluó la confiabilidad de este cuestionario para medir los mg/día consumidos de ENN obteniendo un coeficiente de correlación intraclass (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. Para el presente estudio se actualizó la lista de productos existentes en el 2019.

- Aplicación del cuestionario de actividad física creado por la Universidad de Laval. Este instrumento está validado para población mexicana con un coeficiente de correlación intraclass de 0.86 para medición del gasto energético y además se considera una prueba sensible para detectar cambios ( $p=0.01$ ) (anexo 4) (96).
- Registro de la presión arterial y frecuencia cardiaca con baumanómetro digital automático de brazo marca OMRON® modelo HEM-781INT.
- Estudio de composición corporal mediante equipo de absorciometría con rayos X de doble energía (DXA, por sus siglas en inglés Dual X-ray Absorptiometry) marca General Electric® modelo Lunar Prodigy Advance con instalación del software Encore 16.10.
- Estudio de composición corporal mediante equipo de análisis de impedancia bioeléctrica de 8 puntos marca SECA® modelo mBCA 514.
- Toma de mediciones antropométricas (peso, talla y 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]. Se utilizó una 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; además de una cinta métrica metálica marca LUFKIN® Executive Thinline modelo W606PM con una extensión de 2 m para la medición de las circunferencias.
  - Peso: el sujeto debe estar con el mínimo de ropa posible. Se debe comprobar que la báscula parte de cero y el sujeto permanece de pie viendo al frente y relajado en el centro de la báscula sin apoyo y con su peso distribuido equitativamente en ambos pies.
  - Talla: el sujeto debe permanecer de pie con talones juntos. Los talones, glúteos y parte superior de la espalda en contacto con la escala y la cabeza en el plano de Frankfort (cuando el orbitale está en

el mismo plano horizontal que tragion). Se debe hacer una inspiración o el antropometrista realizar una tracción para asegurar que se está midiendo la estatura máxima.

- Circunferencia de cintura: el sujeto adopta posición relajada, de pie y con brazos cruzados en el tórax y se le pide que se haga una inspiración para localizar la décima costilla, la medición se toma al final de una espiración normal en el punto medio entre el borde lateral costal inferior y la parte superior de la cresta ilíaca, perpendicular al eje longitudinal del tronco.
- Circunferencia de cadera: el sujeto en posición relajada, de pie, con brazos cruzados sobre tórax. Los pies del sujeto deben permanecer juntos y los músculos de los glúteos relajados. El antropometrista se coloca al lado del sujeto y asegurarse que la cinta esté colocada horizontalmente en el lugar adecuado. La medición se realiza en el perímetro de los glúteos a nivel de la prominencia posterior máxima, perpendicular al eje longitudinal del tronco.

Al finalizar todos los procedimientos de la visita 1, se le entregó al participante un registro de consumo de alimentos de 3 días (2 días entre semana y un día de fin de semana) que llenó y entregó en la visita 3, de esta forma se evaluaron los hábitos de alimentación basales. Todos los registros de alimentación recolectados durante el seguimiento de los sujetos se analizaron mediante el Food Processor Nutrition Analysis Software® versión 11.4.412, ESHA Research 2016.

Se les pidió a todos los participantes que no modificaran sus hábitos de alimentación y actividad física que practicaban normalmente, tal y como se registró en los cuestionarios que se aplicaron en esta visita, esto para no modificar su peso corporal y de esta forma controlar algunos de los factores que puedan interferir en los desenlaces evaluados. Aunado a esto, a pesar de que los participantes presentaban un bajo consumo de productos con ENN, se les pidió que desde su inclusión en el estudio no consumieran ninguna fuente de ENN hasta la finalización

de las visitas y se les proporcionó una lista actualizada de productos del mercado mexicano que contienen ENN para que pudieran identificarlos.

Se le explicó al participante que era necesario que una noche antes de la siguiente visita consumiera una cena estandarizada en casa que se calculó con un aporte energético de 12-15 Kcal/kg de masa libre de grasa (MLG) y con la siguiente distribución de macronutrientos: 50% de hidratos de carbono, 20% de proteína y 30% de lípidos. Se proporcionaron diferentes opciones de menú para cubrir estos requerimientos de forma correcta y equitativa entre los demás participantes. Las instrucciones específicas para cada visita se les dieron en físico a los participantes durante todo el seguimiento (anexo 5).

#### b. Visita 2

Se citó al participante a las 7:00 am con un ayuno de 8 a 12 horas para la realización del primer CEH con trazadores para evaluar el estado de sensibilidad a la insulina en el hígado y músculo esquelético antes de comenzar el periodo de intervención, el tiempo transcurrido entre la visita 1 y 2 fue menor o igual a una semana. Los equipos utilizados en la habitación para el CEH incluyeron una cama eléctrica marca Hill-Rom®, bombas de infusión marca MEDIMA®, analizador de glucosa marca YSI® modelo 2900, caja caliente, microcentrifuga marca Eppendorf® modelo 5415 D. El procedimiento realizado en esta visita fue el siguiente:

- Se registró el peso del participante.
- Canalización de ambos brazos del participante con catéter para terapia intravenosa periférica de 20GA x 1.16". En uno de los brazos se colocó una llave de 4 vías para permitir la administración de diferentes soluciones. En el otro brazo, el catéter se colocó en dirección retrógrada (contraflujo) y se instaló un conector para conexión intravenosa permitiendo la toma frecuente de muestras sanguíneas. Además, el antebrazo permaneció dentro de una caja caliente a una temperatura de ≈50°C durante la prueba para la obtención de muestras con sangre arterializada.

- En cuanto se instaló el catéter para el paso de infusiones se inició la administración de una solución que contenía trazadores con isótopos estables marcados de glucosa [6,6<sup>-2</sup>H<sub>2</sub>]. Antes de comenzar, se infundió un bolo inicial a una dosis de 22 µmol/kg a través de una unidad de filtración de 25 mm para jeringa con membrana de 0.2 µm. La administración de los isótopos se realizó de forma continua (0.25 µmol/kg/min) durante 3.5 horas.
- Al término de la infusión de trazadores, se inició el CEH de dos fases que tuvo una duración aproximada de 6 horas (3 horas para cada fase).
- La primera fase se realizó para determinar la sensibilidad a la insulina hepática. Durante estas tres horas, la infusión de los isótopos se redujo al 50% y se inició la administración de solución glucosada al 20% enriquecida al 2.5% con glucosa [6,6<sup>-2</sup>H<sub>2</sub>]. De igual forma, se inició la infusión de insulina regular (PiSA®) a una velocidad de 7 mU/m<sup>2</sup> ASC (Área de Superficie Corporal)/min (comenzando con una dosis de 28 mU/m<sup>2</sup> ASC/min durante 5 minutos y posteriormente a 14 mU/m<sup>2</sup> ASC/min durante otros 5 minutos).
- En la segunda fase se determinó la sensibilidad a la insulina en el músculo esquelético. Durante las siguientes tres horas, la infusión de los isótopos se suspendió y se continuó con la administración de solución glucosada al 20% enriquecida al 2.5% con glucosa [6,6<sup>-2</sup>H<sub>2</sub>]. La infusión de insulina regular se incrementó a una velocidad de 50 mU/m<sup>2</sup> ASC/min (comenzando con una dosis de 200 mU/m<sup>2</sup> ASC/min durante 5 minutos y posteriormente a 100 mU/m<sup>2</sup> ASC/min durante otros 5 minutos).
- Se tomaron muestras de sangre (5 ml) para la medición de las concentraciones de glucosa, insulina e isótopos de glucosa marcada antes de iniciar la infusión con los trazadores y cada 10 minutos durante los 30 minutos finales de cada periodo de 3 horas (basal, fase 1 y fase 2).
- Las concentraciones plasmáticas de glucosa se midieron cada 10 minutos durante el estudio tomando muestras pequeñas (aproximadamente 1 ml) para valorar si se había logrado la euglucemia ( $\approx$ 100: 95-105 mg/dL) al ir realizando modificaciones en la administración de solución glucosada al 20% de acuerdo a los valores de glucemia que se iban obteniendo.

- Se volvió a explicar a los participantes la importancia de no modificar su peso corporal, sus hábitos de alimentación y actividad física, y de no consumir otros productos que contengan ENN.
- Se les entregó el material necesario para la recolección de la muestra basal de heces (hielera de unicel, tubo para recolección de muestra, gel para mantenimiento de la temperatura en refrigeración y guantes de látex). Además, se les explicó paso por paso el proceso para la obtención de la muestra a través de una infografía que se llevaron a casa (anexo 6).

c. Visita 3

Se citó al participante con un ayuno de 8 a 12 horas para la realización de la primera curva de 2 horas con ingestión de un desayuno mixto estandarizado. El tiempo transcurrido entre la visita 2 y 3 fue menor o igual a una semana. A la llegada del sujeto, se le pidió que entregara la hielera que se le brindó en la visita anterior, para almacenar de forma adecuada la muestra de heces recolectada. La finalidad de esta visita fue evaluar el efecto del consumo de sucralosa vs placebo en las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina, GLP-1, péptido C, ghrelina y PYY de manera postprandial al combinar el ENN con la ingestión de hidratos de carbono y otros nutrimentos. El procedimiento a realizar en esta visita fue el siguiente:

- Se registró el peso del participante y se recolectó un recordatorio de alimentación de 24 horas. Se le pidió que entregara el registro de consumo de alimentos de 3 días que se le dio en la visita 1 para evaluar la ingestión dietética basal.
- Se colocó un catéter para terapia intravenosa periférica de 20GA x 1.16" en uno de los brazos del participante para la toma de muestras y, diez minutos antes de iniciar la curva, el participante ingirió una cápsula con 150 ml de agua simple que contenía 120 mg de sucralosa o placebo de acuerdo al grupo de intervención al que fue asignado de manera aleatoria y cegada. Dicha cantidad fue establecida tomando como referencia el contenido de sucralosa en una bebida gaseosa de dieta de 600 ml.

- Posterior a la toma de la cápsula, se procedió a tomar las muestras de sangre correspondientes al minuto 0: un tubo de 6 ml para la medición de glucosa, insulina, PCR y LPS en suero y un tubo de 6 ml que contenía inhibidor de DPP-IV para medir las concentraciones de GLP-1, Ghrelina y PYY, además de péptido C, IL-6 y TNF- $\alpha$  en plasma. Se mantuvo siempre la cadena de frío en todos los tubos que contenían inhibidor de DPP-IV y se almacenaron las alícuotas a -20°C hasta el momento de su medición.
- El participante recibió un desayuno mixto estandarizado que consumió en un tiempo máximo de 15 minutos. El aporte calórico de este desayuno fue de 523 Kcal, conteniendo 64 g de hidratos de carbono (49%), 22 g de proteína (17%) y 20 g de lípidos (34%). Por parte de los hidratos de carbono, un 16.8% de las calorías totales del desayuno correspondía a azúcares. El menú del desayuno contenía los siguientes ingredientes:
  - 250 ml de leche deslactosada *light* Alpura®
  - 30 g de queso panela en rebanadas FUD®
  - 36 g de pechuga de pavo Premium en rebanadas SWAN®
  - 2 rebanadas de pan de caja blanco Bimbo®
  - 10 g de mayonesa McCormick®
  - 200 ml de néctar de naranja Jumex®
- Se recolectaron muestras de sangre en un tubo de 6 ml para medición de glucosa e insulina en suero y un tubo de 3 ml con inhibidor de DPP-IV para medición de GLP-1, péptido C, ghrelina y PYY en plasma en los siguientes tiempos: 30, 60, 90 y 120 minutos.
- Se le entregó a cada participante el frasco correspondiente a su número de folio que contenía las cápsulas que debía de consumir durante todo el periodo de intervención de acuerdo al grupo al que fue asignado (ni el investigador, ni el participante, ni la persona encargada del análisis estadístico del estudio sabían a qué grupo pertenecían los participantes). La dosis de sucralosa que se dio correspondía aproximadamente al 30% de la IDA de sucralosa establecida por el JECFA (15 mg/kg/día). Se estimó la media del 30% de la IDA de sucralosa en los sujetos que participaron en

nuestro estudio anterior ( $n=66$ ) y que tenían las mismas características de los participantes que se incluyeron en este estudio. El promedio resultó en  $261.2 \pm 38.3$  mg, por lo que se decidió dar una dosis diaria de 270 mg dividida en 3 tomas. Cada toma correspondía a 1 cápsula que contenía 90 mg de sucralosa o placebo y que debía de ingerirse 10 minutos antes de cada comida principal (desayuno, comida y cena).

- Además, se entregaron 6 cápsulas extras para cubrir 2 días más en caso de que la visita 4 no se pudiera programar exactamente a los 30 días, dejando una ventana de  $\pm 2$  días entre las visitas (los participantes no sabían que se les estaban entregando más cápsulas de las correspondientes y esto permitió confirmar la veracidad de su registro de consumo de cápsulas).
- Se les pidió a los participantes que registraran en el formato de apego a la intervención (anexo 7), las cápsulas ingeridas en cada tiempo de comida y los síntomas experimentados relacionados con el consumo de las cápsulas durante la intervención.
- Se les volvió a explicar a los participantes la importancia de no modificar su peso corporal, sus hábitos de alimentación y actividad física; así como de no consumir otros productos que contuvieran ENN. Se les entregó un registro de consumo de alimentos de 3 días (2 días entre semana y 1 de fin de semana) para que fuera llenado durante todo el mes del periodo de intervención y así evaluar si hubo cambios o no en la alimentación.
- Se les entregó nuevamente el material necesario para la recolección de la muestra final de heces tal y como se les dio y explicó en la visita 2 para la muestra basal. Esta muestra se entregó en la visita 4.
- Se mantuvo contacto vía telefónica con los participantes a la mitad del periodo de intervención (día 15) para llevar un seguimiento acerca de su estado de salud, apego a la intervención, resolver dudas sobre los formatos que debían de llenar y recordarles acerca de la siguiente visita. También se les dio la indicación de que la noche previa a la visita 4 realizaran la misma cena prescrita un día antes de la visita 2.

d. Visita 4

Se citó al participante a las 7:00 am con un ayuno de 8 a 12 horas para la realización del segundo CEH con trazadores para evaluar el estado de sensibilidad a la insulina en el hígado y músculo esquelético al término del periodo de intervención. El tiempo transcurrido entre la visita 3 y 4 fue de  $30 \pm 2$  días. Los procedimientos de esta visita fueron exactamente los mismos que se mencionan en la visita 2 para la realización del clamp.

Los participantes entregaron a su llegada la hielera que se les brindó en la visita anterior para almacenar de forma adecuada la muestra de heces recolectada. Se les pidió a los participantes que entregaran el formato de apego a la intervención y el registro de consumo de alimentos de 3 días para evaluar los cambios en los hábitos de alimentación; estos formatos fueron revisados en ese momento por un licenciado en nutrición para verificar que el participante registró las cantidades, ingredientes y alimentos adecuadamente. Además, se volvió a aplicar el cuestionario de actividad física de Laval. Se consideraron dos criterio de apego a la intervención: cumplimiento (consumo  $\geq 80\%$  del total de cápsulas entregadas) y persistencia (consumo de las cápsulas  $\geq 25$  días del periodo de intervención). Los participantes regresaron los frascos que contenían las cápsulas para realizar el conteo y comparar con el formato de apego a la intervención, debiendo coincidir el número total de cápsulas ingeridas con las cápsulas restantes en el frasco.

e. Visita 5

Se citó a los participantes con un ayuno de 8 a 12 horas para la realización de la segunda curva de 2 horas con la ingestión de un desayuno mixto estandarizado. El tiempo transcurrido entre la visita 4 y 5 fue máximo de 3 días, ya que los participantes habían finalizado el periodo de ingestión de las cápsulas. La finalidad de esta visita fue evaluar el efecto del consumo de sucralosa vs placebo en las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina, GLP-1, ghrelina, PYY y péptido C de manera postprandial después de que se consumieron las cápsulas por

un periodo de 30 días. También se recolectaron las muestras para cuantificar las concentraciones finales de todos los marcadores de inflamación (LPS, PCR, IL-6 y TNF- $\alpha$ ). El procedimiento realizado en esta visita fue el mismo descrito en la visita 3 (registrar el peso del participante, recolectar un recordatorio de 24 horas y realizar una curva con alimento mixto de 2 horas obteniendo las mismas muestras en los minutos 0, 30, 60, 90 y 120).

Se le dio a cada participante un registro de consumo de alimentos de 3 días (2 días entre semana y 1 de fin de semana) para que fuera llenado y se entregara en la visita 6.

f. Visita 6

Se citó al participante con un ayuno de 8 a 12 horas. El tiempo transcurrido entre la visita 5 y 6 fue aproximadamente de un mes. Se registró el peso del participante, se le pidió que entregara el registro de consumo de alimentos de 3 días que se le dio en la visita anterior y se aplicó nuevamente el cuestionario de actividad física de Laval. Se tomó una muestra de sangre en ayuno en un tubo de 6 ml para medición de glucosa, insulina y perfil de lípidos en suero. La finalidad de esta visita fue explorar si existen cambios significativos en estos parámetros un mes después de que los participantes terminaron el periodo de intervención.

La metodología para el análisis de las muestras obtenidas durante el CEH fue la siguiente (35,97):

1. El primer que se obtiene a través del CEH es el valor M o “glucosa metabolizable” y refleja la cantidad de glucosa exógena necesaria para compensar la hiperinsulinemia, ya que la tasa de infusión de glucosa es igual a la tasa de eliminación (utilización) de glucosa en todo el cuerpo.
2. El valor M puede expresarse por peso corporal (mg de glucosa infundida por cada kg de peso corporal por minuto durante el

periodo de euglucemia), o bien, por área de superficie corporal ( $\text{mg}/\text{m}^2 \cdot \text{min}$ ). Sin embargo, lo ideal es ajustarlo por kg de MLG ( $\text{mg}/\text{kg MLG} \cdot \text{min}$ ), para considerar las variaciones en la composición corporal de los individuos. En este estudio, se calculó tanto por peso corporal total (PCT) como por MLG.

3. El valor M se calcula con la tasa de infusión (ml/h) de la solución glucosada al 20% que se tenía al momento del periodo estable (euglucemia) durante la fase 1 (hígado) y durante la fase 2 (músculo esquelético). De esta forma, se calculan los mg de glucosa infundidos por min por kg de PCT o MLG.
4. Posteriormente, se calculó el valor M/I para ajustar el valor M por la concentración de insulina que tenía el participante al momento del periodo estable (euglucemia) durante ambas fases. El valor M/I se calculó dividiendo el valor M entre el promedio de la concentración de insulina plasmática que se obtuvo en las muestras recolectadas durante los últimos 30 minutos de cada una de las fases (cuando se alcanzó el periodo estable). De tal forma que, este parámetro permite conocer la cantidad de glucosa metabolizada en cada sitio (hígado o músculo esquelético) por unidad de insulina plasmática.

La metodología para el procesamiento de las muestras de heces necesario para el análisis de la microbiota intestinal se describe a continuación (98):

1. Las muestras se recolectaron en frío y se almacenaron alícuotas de 180-220 mg en tubos de microcentrífuga de 1.5 ml con una balanza analítica electrónica marca OHAUS® modelo Explorer. Si la muestra era líquida, se pipeteó 220  $\mu\text{l}$  en el tubo de microcentrífuga. Se añadió 1 ml de RNAlater (QIAGEN®) para almacenarse en congelación a -80°C hasta su análisis. Se realizó la extracción de ADN (ácido desoxirribonucleico) de manera paulatina conforme se fueron recolectando las muestras.

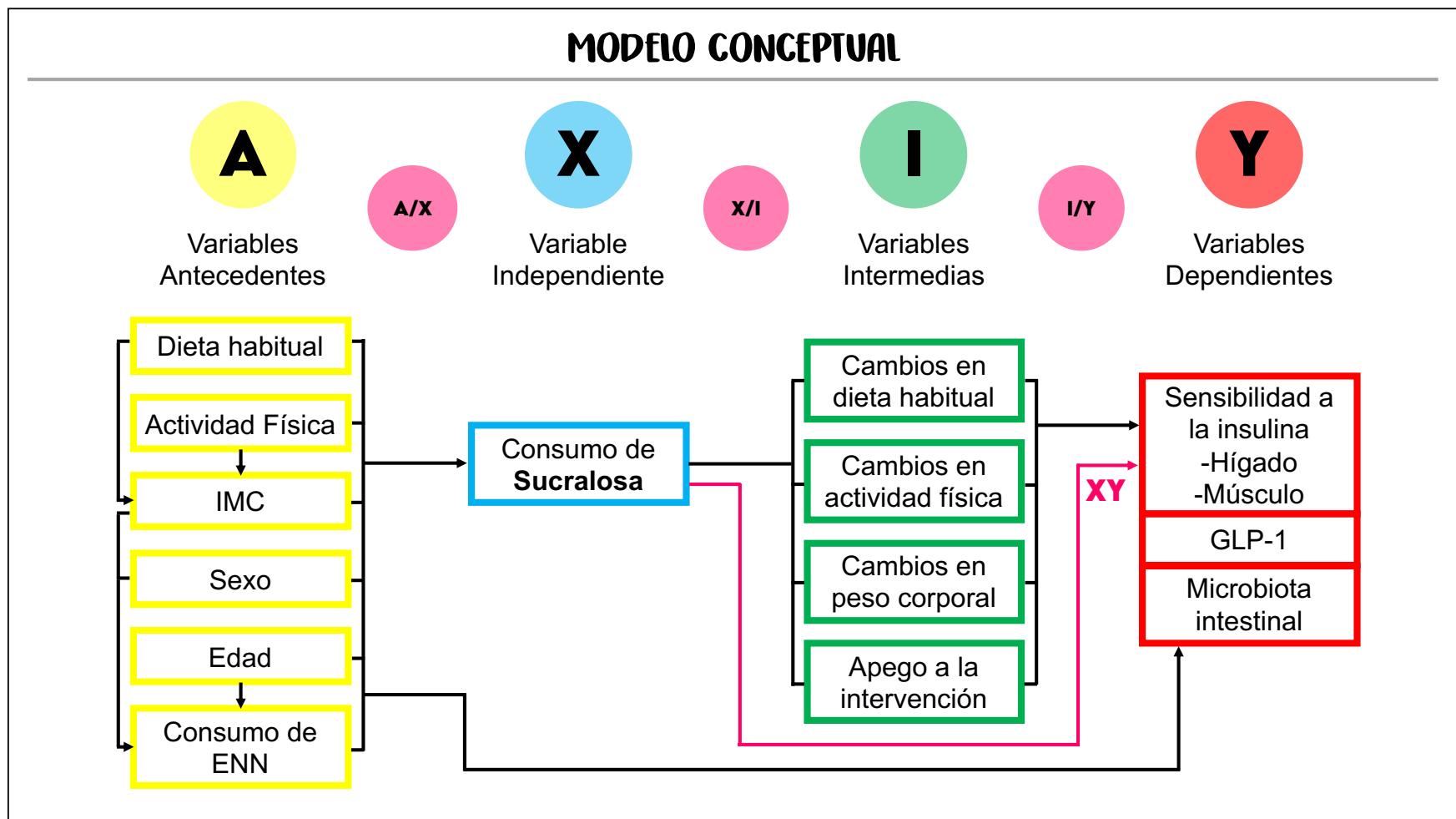
2. La extracción de ADN se hizo con el kit QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (QIAGEN®). Todos los pasos que incluyeron centrifugación se llevaron a cabo a temperatura ambiente (15-25°C) y a 14,000 rpm con una microcentrífuga marca Hettich® modelo MIKRO 220R.
3. Se trasladó la muestra descongelada a un nuevo tubo de microcentrífuga de 2 ml sin el RNAlater que contenía y se añadió 1.6 ml de Buffer ASL a cada muestra. Se vortexeó hasta que la muestra se viera homogénea con vórtex marca Scientific Industries® modelo GENIE 2.
4. Se centrifugó la muestra a la velocidad máxima por un minuto para disolver todas las partículas de la muestra.
5. Se pipeteó 1.4 ml del sobrenadante en un nuevo tubo de microcentrífuga de 2 ml y se descartó el restante.
6. Se agregó una pastilla InhibitEX a cada muestra y se vortexeó inmediata y continuamente por un minuto o hasta que la pastilla se encontrara totalmente suspendida. Se incubó por un minuto a temperatura ambiente (15-25°C) para permitir que los residuos se absorban en la matriz InhibitEX.
7. Se centrifugó la muestra a la velocidad máxima por tres minutos para sedimentar y compactar los residuos unidos a la matriz InhibitEX. En algunos casos puede incrementarse el tiempo de centrifugado hasta seis minutos. Se consideró el no procesar más de 12 muestras a la vez.
8. Inmediatamente después de que se detuvo la centrífuga, se pipeteó todo el sobrenadante (0.7 ml aproximadamente) en un nuevo tubo de microcentrífuga de 1.5 ml y se descartó el residuo. Se centrifugó la muestra a máxima velocidad por tres minutos.
9. Pipetear 25 µl de proteinasa K en un nuevo tubo de microcentrífuga de 2 ml.
10. Pipetear 600 µl del sobrenadante del paso 7 en el tubo de microcentrífuga de 2 ml que contiene la proteinasa K.
11. Se añadió 600 µl del Buffer AL y se vortexeó por 15 segundos. No se debe de añadir la proteinasa K directamente con el Buffer AL.

12. Se incubaron las muestras a 70° C por 10 minutos. Puede realizarse con un baño de agua caliente o con un calentador de bloque de laboratorio electrónico (Thermoblock marca Lab-Line Instruments Inc® modelo 2044).
13. Se añadió 600 µl de etanol al 96-100% para promover la lisis y se mezcló utilizando el vórtex.
14. Se etiquetó una nueva columna de centrifugado QIAamp en un tubo colector de 2 ml y se aplicó cuidadosamente 600 µl de la solución de lisado celular del paso 12 a la columna de centrifugado sin mojar el borde. Cerrar la tapa y centrifugar a máxima velocidad por un minuto. Se pasó la columna de centrifugado QIAamp a un nuevo tubo colector de 2 ml y se descartó el tubo que contenía el filtrado.
15. Cuidadosamente se abrió la columna de centrifugado QIAamp, se aplicó una secunda alícuota de 600 µl del lisado celular y se centrifugó a máxima velocidad por un minuto. Se colocó la columna de centrifugado QIAamp en un nuevo tubo de colector de 2 ml y se descartó el tubo con el filtrado.
16. Se repitió el paso 14 con la tercera alícuota del lisado celular en la columna de centrifugado QIAamp.
17. Cuidadosamente se abrió la columna de centrifugado QIAamp y se añadió 500 µl del Buffer AW1. Cerrar la tapa y centrifugar a máxima velocidad por un minuto. Se colocó la columna de centrifugado QIAamp en un nuevo tubo colector de 2 ml y se descartó el tubo que contenía el filtrado.
18. Cuidadosamente se abrió la columna de centrifugado QIAamp y se añadió 500 µl del Buffer AW2. Cerrar la tapa y centrifugar a máxima velocidad por tres minutos. Se descartó posteriormente el tubo que contenía el filtrado.
19. Se colocó la columna de centrifugado QIAamp en un nuevo tubo colector de 2 ml y se descartó el otro tubo colector utilizado. Se centrifugó a máxima velocidad por un minuto. Este paso ayuda a eliminar la posibilidad de que existan residuos del Buffer AW2 en la columna.
20. Se transfirió la columna de centrifugado QIAamp a un nuevo y etiquetado tubo de microcentrífuga de 1.5 ml. Cuidadosamente se abrió la columna y se pipeteó 100 µl del Buffer AE directamente en la membrana QIAamp. Cerrar

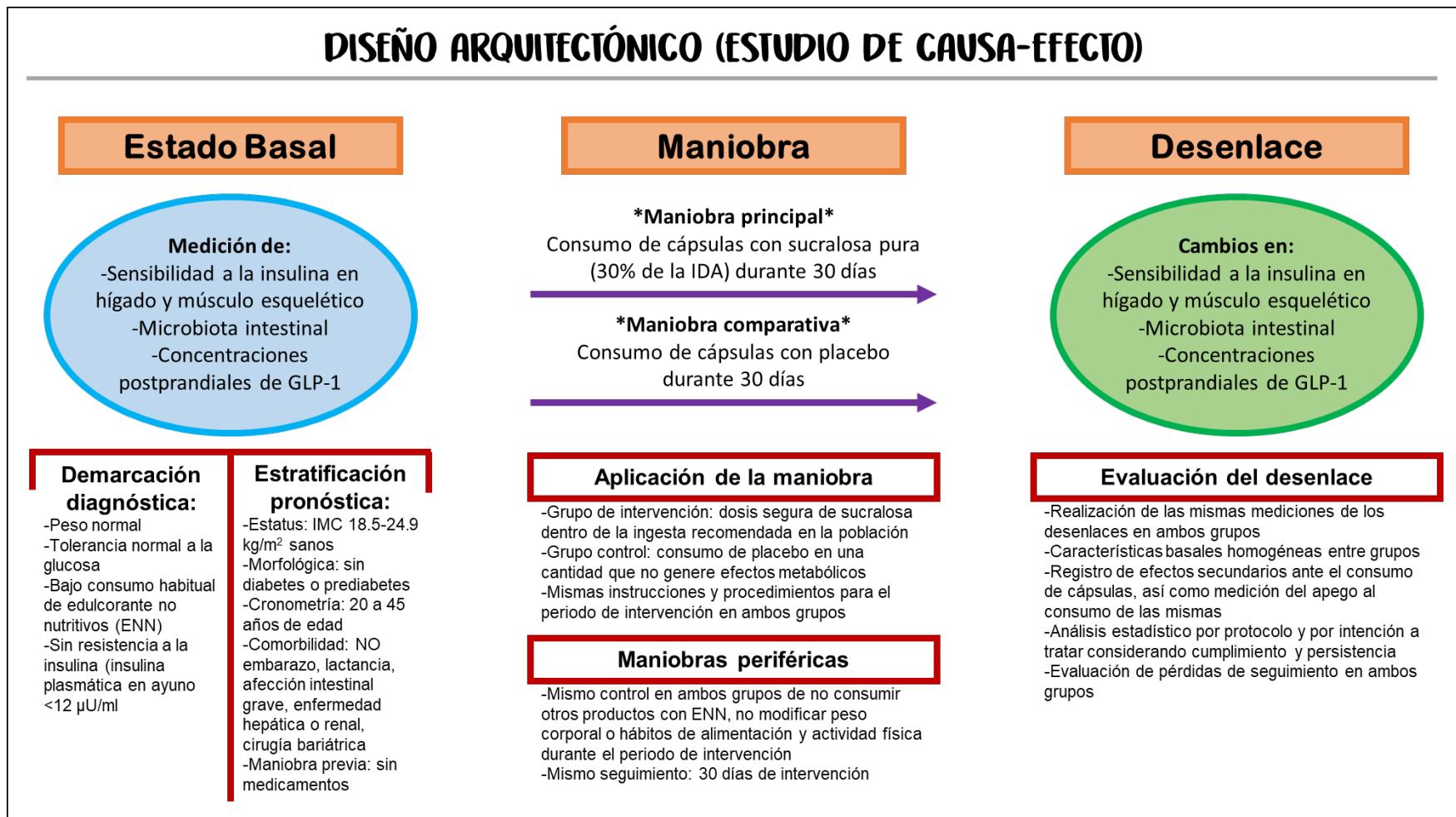
la tapa e incubar por 30 minutos a temperatura ambiente (15-25°C). Posteriormente, se centrifugó a máxima velocidad por un minuto para promover la separación del ADN.

21. Se evaluó en el equipo NanoDrop 2000 (espectrofotómetro) la concentración que se tuvo de ADN (idealmente 75-300 ng/μl) y que se encontrara dentro de los parámetros permitidos de pureza y contenido de sales.
22. Mediante el equipo Qubit 3 (fluorómetro) se cuantificó la cantidad de ADN de doble hélice que se obtuvo (idealmente 15-60 μg), para verificar la calidad del ADN que se extrajo.
23. En el equipo QIAxcel se midió la cantidad de ARN obtenido y que el peso de la muestra fuera adecuado.
24. Posteriormente, se almacenaron los tubos de microcentrífuga con el ADN extraído de las muestras a -80°C hasta el momento de su secuenciación.
25. Después de la extracción de ADN de todas las muestras, éstas se mandaron a secuenciar mediante la reacción en cadena de la polimerasa utilizando el equipo MiSeq. Se hizo la secuenciación por síntesis del ARNr (ácido ribonucleico ribosomal) del gen 16S que poseen todas las bacterias y que tiene 9 regiones variantes, haciendo la amplificación de la región V3 y V4.
26. Posteriormente, con el programa de bioinformática QIIME se hizo el análisis del microbioma y arrojó los FASTQ, que son archivos de texto que contienen la secuencia de las bases nitrogenadas.
27. Los archivos FASTQ se ingresaron al programa GREENGENES para hacer el análisis de alfa y beta diversidad mediante la identificación de la similitud de secuencia con los OTUs (unidades taxonómicas operacionales) para finalmente reconocer la abundancia de géneros y especies de bacterias.

**Modelo conceptual del proyecto: representación gráfica de las diferentes variables implicadas en el fenómeno en estudio de acuerdo a la temporalidad**



**Modelo arquitectónico del proyecto (estudio de causa-efecto): se explica la implementación del estudio desde el estado basal, la maniobra (intervención) y la evaluación de los desenlaces**



## CUADRO DE OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Unidad de medición</b>	<b>Categorías</b>	<b>Tipo de variable</b>
<b>VARIABLES ANTECEDENTES</b>					
Sexo	Condición orgánica que distingue a los hombres de las mujeres (99)	Por interrogatorio directo	NA	a. Hombre b. Mujer	Cualitativa nominal dicotómica
Edad	Tiempo que ha vivido una persona (100)	Por interrogatorio directo con los años cumplidos al momento del estudio	Años	20 a 45	Cuantitativa discreta
Dieta habitual	Consumo de alimentos y bebidas que tiene una persona en un día y que acostumbra de manera normal (101)	Registro de consumo de alimentos de 3 días: recolectar con cantidades los alimentos consumidos en 2 días entre semana y 1 día fin de semana (102)	a. Kcal b. % Kcal de carbohidratos, proteínas, lípidos, fibra e hidratos de carbono simples	Kilocalorías: NA Gramos: NA	Cuantitativa continua de razón
Actividad física	Cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que exija gasto de energía (103)	Cuestionario de actividad física de la Universidad de Laval (anexo 4) que categoriza todas las actividades realizadas en 24 horas por cada 15 minutos según la intensidad de la actividad y se calcula el gasto calórico por día considerando el peso corporal de la persona (96)	Gasto energético: Kcal/día	Kcal/día: NA	Cuantitativa continua de razón
Índice de Masa Corporal	Indicador simple de la relación entre el peso y la talla que se utiliza frecuentemente para evaluar el estado nutricional (104)	Se calcula dividiendo el peso de una persona en kilogramos entre el cuadrado de su talla en metros ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (104)	$\text{kg}/\text{m}^2$	Peso normal 18.5 - 24.9 $\text{kg}/\text{m}^2$	Cuantitativa continua de razón

Consumo de edulcorantes no nutritivos (ENN)	<p>Ingestión de una persona que habitualmente es reducida en productos que contienen aspartame, sucralosa, acesulfame potásico, estevia o sacarina (92)</p>	<p>Se determina con un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos adaptado a productos del mercado mexicano que contienen ENN (anexo 3) (92)</p> <p>Cumplir con los siguientes criterios: 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:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Sustitutos de azúcar: ≤3 sobres</li> <li>2) Bebidas light (refrescos, tés, jugos): ≤1 lata (355 ml)</li> <li>3) Yogurt light: ≤1 vaso (semisólido) o 1 bote (para beber)</li> <li>4) Gelatina: ≤1 taza (250 ml)</li> <li>5) Chicles o pastillas sin azúcar: ≤ 5 piezas</li> <li>6) Saborizantes de agua en polvo: ≤ 2 tazas (500 ml)</li> <li>7) Otros productos: (avena instantánea, mermelada, galletas, dulces, granola, miel, postres, cereales, etc.): ≤ 3 porciones</li> </ol>	Número de productos o porciones de alimentos y bebidas con ENN a la semana	<p>a. Bajo consumo b. Alto consumo</p>	Cualitativa nominal dicotómica
---	---	---	--	--	--------------------------------

<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b>					
Intervención del estudio	Consumo de cápsulas que contengan sucralosa o placebo (almidón de maíz natural) (105)	<p>Se calcula en base al 30% de la IDA de sucralosa establecida por el JECFA en 15 mg por cada kg de peso corporal (6)</p> <p>Posteriormente se entrega a los participantes un frasco con 96 cápsulas llenas de la intervención que se le haya asignado ciegamente (sucralosa o placebo). Cada cápsula contendrá 90 mg y deberá ingerir 3 al día para lograr una ingestión de 270 mg/día.</p>	Grupo asignado	a. Sucralosa b. Placebo	Cuantitativa discreta
<b>VARIABLES INTERMEDIAS (MODIFICADORAS DEL EFECTO)</b>					
Cambio en la dieta habitual	Modificaciones en la alimentación que acostumbra regularmente una persona	<p>Comparación con registros de consumo de alimentos de 3 días durante el periodo de intervención</p> <p>Porcentaje de cambio en consumo calórico:  <math display="block">[(\text{ingestión al final de la intervención} - \text{ingestión al inicio}) / \text{ingestión al inicio del estudio}] * 100</math> </p>	%  Energía, % Kcal de carbohidratos, proteínas, lípidos, grasa saturadas, grasas poliinsaturadas e hidratos de carbono simples, al igual que gramos de fibra total	Porcentaje de cambio: -100% a 100%.	Cuantitativa continua de intervalo
Cambio en el peso corporal	Variaciones en el peso corporal de una persona durante un periodo determinado (106)	<p>Porcentaje de cambio de peso</p> <p><math display="block">[(\text{Peso en kg en la visita 4} - \text{peso en kg en la vista 3}) / \text{peso en kg en la visita 3}] * 100</math></p>	%	Porcentaje de cambio: -100% a 100%.	Cuantitativa continua de intervalo

Cambio en la actividad física	Modificaciones en la actividad física que realiza regularmente una persona	Comparación entre la visita 1 y la visita 5 mediante el cuestionario de actividad física de Laval (96,107)  Porcentaje de cambio en Kcal/día: [(Actividad física realizada al final del estudio – actividad física realizada al inicio del estudio) / actividad física realizada al inicio del estudio] * 100	%	Porcentaje de cambio: -100% a 100%.	Cuantitativa continua de intervalo
Apego a la intervención	Adherencia de los participantes a una determinada intervención en un ensayo clínico (105)	Cumplimiento: porcentaje de cápsulas ingeridas en el periodo de intervención respecto al total de cápsulas indicadas  Persistencia: días en que fueron ingeridas las cápsulas de los 30 días del periodo de intervención  a) Apego adecuado a la intervención: cumplimiento ≥80% y persistencia ≥ 25 días  b) Apego inadecuado a la intervención: cumplimiento <80% y persistencia <25 días	Número de cápsulas consumidas por los participantes durante el periodo de intervención	a. Buen apego a la intervención b. Mal apego a la intervención	Cualitativa nominal dicotómica

VARIABLES DEPENDIENTES					
Sensibilidad a la insulina en hígado	Efectividad de la acción de la insulina en el hígado para la disminución de los niveles de glucosa sanguínea (37,97)	Glucosa (mg) infundida por minuto por kg de PCT o MLG durante el periodo estable de la fase 1 del CEH dividido por el promedio de insulinemia.	$100 \times \frac{\text{mg} \cdot \text{kg} \cdot \text{min}}{\text{mU/L}}$	NA	Cuantitativa continua de razón
Sensibilidad a la insulina en músculo esquelético	Efectividad de la acción de la insulina en el músculo esquelético para la disminución de los niveles de glucosa sanguínea (37,97)	Glucosa (mg) infundida por minuto por kg de PCT o MLG durante el periodo estable de la fase 2 del CEH dividido por el promedio de insulinemia.	$100 \times \frac{\text{mg} \cdot \text{kg} \cdot \text{min}}{\text{mU/L}}$	NA	Cuantitativa continua de razón
Microbiota intestinal	Ecosistema bacteriano complejo que alberga en el tubo digestivo (108)	Medida mediante la secuenciación por síntesis del ARN ribosomal del gen 16s y posteriormente determinar género y especie de bacterias (98)	UFC	NA	Cuantitativa discreta
Péptido similar al glucagón tipo-1 (GLP-1)	Hormona responsable de estimular aproximadamente el 50% de la secreción de insulina postprandial (38)	Niveles plasmáticos de GLP-1 activo medidos mediante técnica inmunológica por láser (71)	pg/ml	NA	Cuantitativa continua de razón
Hormonas reguladoras del apetito	Hormonas que tienen un papel modulador en la ingestión alimentaria (109)	Niveles plasmáticos de ghrelina y PYY medidos mediante la técnica inmunológica por láser Milliplex para múltiples analitos (71)	Ghrelina: pg/ml PYY: pg/ml	NA	Cuantitativa continua de razón
Metabolismo de glucosa postprandial	Proceso bioquímico de ruptura y conversión de los glúcidos (27)	Niveles séricos de glucosa, insulina y péptido C después del consumo de un desayuno estandarizado	Glucosa: mg/dL Insulina: mg/dL Péptido C: ng/ml	NA	Cuantitativa continua de razón

NA: no aplica, IDA: ingesta diaria admisible, PCT: peso corporal total, MLG: masa libre de grasa, CEH: clamp euglucémico hiperinsulinémico, ARN: ácido ribonucleico, UFC: unidades formadoras de colonia.

## **PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos se recolectaron, almacenaron y analizaron en el paquete estadístico SPSS® (Statistical Package for the Social Sciences) por IBM® para Windows, versión 25.0.

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

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

En este caso, no fue necesario realizar un análisis por protocolo y un análisis por intención a tratar, ya que todos los participantes de este estudio en ambos grupos, cumplieron con los criterios de apego adecuado (cumplimiento  $\geq 80\%$  en cuanto al consumo total de cápsulas y persistencia  $\geq 25$  días en cuanto a los días en que fueron consumidas las cápsulas durante el periodo de intervención).

Las diferencias entre la medición basal y final de las variables de desenlace (valores M/I, abundancia relativa de bacterias, factores inflamatorios) por cada grupo de estudio se analizaron con la prueba *t*-pareada para las variables paramétricas o la prueba de Wilcoxon para las variables no paramétricas.

Se calcularon los porcentajes de cambio para todas las variables de desenlace y se compararon las diferencias entre los grupos con las pruebas *t*-student o U de Mann-Whitney, según correspondiera.

Las diferencias en las concentraciones postprandiales de glucosa, insulina, GLP-1, ghrelina, PYY y péptido C se evaluaron mediante ANOVA de medidas repetidas comparando la visita basal con la final por grupo. De igual forma se

calcularon las AUC totales (tAUC) e incrementales (iAUC) para cada desenlace y se comparó el valor basal con el final con *t*-pareada o Wilcoxon y con el porcentaje de cambio por desenlace se evaluó la diferencia entre grupos con *t*-student o U de Mann-Whitney.

La descripción de los efectos secundarios registrados por el consumo de las cápsulas se realizó mediante frecuencias y porcentajes, y se compararon las diferencias entre los grupos con chi cuadrada o prueba exacta de Fisher según fuera lo apropiado.

En todos los casos se consideró como un hallazgo estadísticamente significativo cuando el valor de *p* fuera menor a 0.05.

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El protocolo de investigación fue sometido a evaluación y aprobado el 9 de julio de 2018 por el Comité de Investigación y el Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán con número de referencia asignado 2635 (anexo 1). El estudio se apegó a las normativas de la declaración de Helsinki y se rigió por los principios éticos universales de respeto a las personas, beneficencia y justicia (110). Todos los investigadores participantes contaban con la certificación que otorga la oficina para investigaciones extrainstitucionales de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América para la protección de los participantes humanos de la investigación y que capacita acerca de las buenas prácticas clínicas.

Se explicaron los diferentes procedimientos que se iban a realizar durante las seis visitas de la investigación, la cantidad de sangre que se obtendría y las posibles molestias que se podrían presentar derivadas de las canalizaciones que se requerían. Todo esto para obtener el consentimiento informado por parte de todos los participantes (anexo 1).

De acuerdo al artículo 17 del reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud en México, el estudio se clasificó como

investigación con riesgo mayor que el mínimo, ya que a pesar de que se cumplen con los criterios de investigación con riesgo mínimo (extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud con frecuencia máxima de dos veces a la semana y volumen máximo de 450 ml en dos meses), la pruebas realizadas en el estudio involucraron la administración intravenosa de glucosa, insulina y los trazadores (111). Para efectos de esta investigación, la obtención de muestras sanguíneas no se realizó más de una vez a la semana y la cantidad de sangre obtenida durante todo el estudio fue menor a los 450 ml establecidos por el reglamento.

En caso de que se presentaran efectos adversos en alguno de los procedimientos o que se estableciera un diagnóstico de diabetes o prediabetes en la CTOG realizada en la visita 1, se les dio a los participantes la atención médica y nutricional necesaria en el INCMNSZ.

## **RESULTADOS**

Se evaluaron a 44 sujetos para ser seleccionados como participantes en el estudio, de los cuales 20 se excluyeron por distintas razones. En la figura 1 se muestra el diagrama de flujo que explica el proceso de selección de los participantes de acuerdo a las guías CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) para ensayos clínicos. Se incluyeron a 24 sujetos de acuerdo al tamaño de muestra calculado que fueron asignados aleatoriamente a uno de los dos grupos del estudio: 12 en el grupo de intervención (sucralosa) y 12 en el grupo control (placebo). Sólo se tuvo una pérdida de seguimiento en el grupo de intervención, no obstante, esta pérdida no excede del 20% añadido al tamaño de muestra para probables pérdidas. Este participante asistió a la medición inicial de las variables de resultado (visitas 2 y 3) y está incluido en la descripción de las características basales de la población de estudio, sin embargo, por el motivo que se muestra en la figura 1, no pudo regresar a la medición final después del periodo de intervención (visitas 4, 5 y 6).

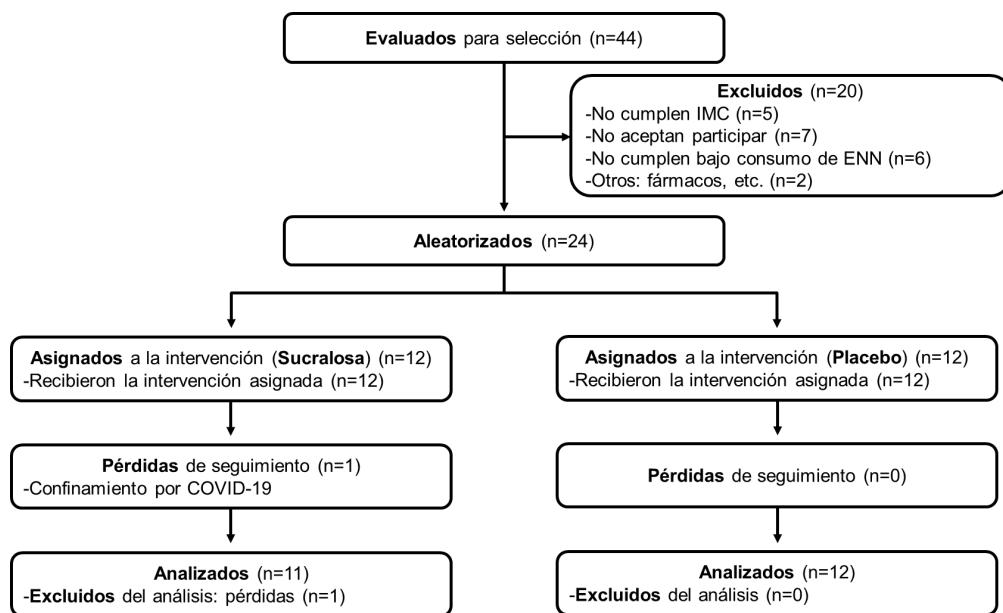


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de selección de los participantes del estudio. IMC: índice de masa corporal; ENN: edulcorantes no nutritivos; COVID-19: enfermedad por coronavirus 2019.

En la tabla I se muestran las características basales de los participantes del estudio. Se reclutaron a 6 mujeres y 6 hombres en cada uno de los grupos (50.0% de cada uno de los sexos en ambos grupos) con una mediana de edad de 24 años en ambos grupos y un IMC de  $22.5 \pm 1.7 \text{ kg/m}^2$  en el grupo placebo y de  $21.4 \pm 1.8 \text{ kg/m}^2$  en el grupo sucralosa. De manera general, en la tabla I se puede observar que todas las variables antropométricas, bioquímicas y clínicas de la población se encuentran en rangos considerables como normales, lo que quiere decir, que se pueden considerar a los participantes del estudio como población aparentemente sana. Ninguno de los sujetos incluidos tiene antecedentes de diabetes mellitus en familiares de primer grado. Sólo tres participantes reportaron consumir ocasionalmente antiinflamatorios no esteroideos y ninguno reportó consumir ni antiácidos ni laxantes o fibras para el estreñimiento.

Se realizó la comparación entre grupos en todas las características basales consideradas y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables ( $p \geq 0.05$ ), por lo que se concluye que hubo homogeneidad entre los grupos de estudio.

El apego al consumo de las cápsulas fue alto en ambos grupos, con un promedio del 95.4% en cuanto al consumo de cápsulas del total que se otorgaron en el grupo placebo y del 93.3% en el grupo sucralosa. En la figura 2 se muestra que no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre la adherencia en ambos grupos ( $p=0.21$ ). Todos los participantes obtuvieron satisfactoriamente ambos criterios de buena adherencia (cumplimiento y persistencia, como se explica en la sección de análisis estadístico), por lo que no fue necesario realizar un análisis por protocolo. El consumo en promedio de sucralosa fue de  $245.7 \pm 16.0 \text{ mg/día}$ , lo que corresponde al  $27.9 \pm 3.2\%$  de la IDA de los participantes en este grupo acorde al JECFA. El periodo de intervención tuvo una duración en ambos grupos de 29.7 días en promedio.

Tabla I. Características basales de la población de estudio.

	Grupo Placebo (n=12)	Grupo Sucralosa (n=12)	p*
Sexo: mujer, n (%)	6 (50%)	6 (50%)	1.00
Edad, años	24.5 [23.0-25.7]	24.0 [22.2-25.0]	0.34
Peso, kg	64.4 ± 11.0	59.1 ± 8.2	0.20
Talla, m	1.68 ± 0.10	1.66 ± 0.10	0.55
IMC, kg/m <sup>2</sup>	22.5 ± 1.7	21.4 ± 1.8	0.15
Cintura, cm	75.7 ± 6.1	73.1 ± 7.4	0.36
Cadera, cm	95.3 ± 5.4	93.8 ± 4.3	0.49
ICC	0.79 ± 0.05	0.77 ± 0.06	0.49
Grasa corporal DXA, %	27.5 ± 7.6	31.1 ± 4.8	0.18
MLG DXA, kg	47.5 ± 11.7	41.6 ± 7.6	0.14
Grasa visceral DXA, g	240 [139-311]	219 [126-342]	0.67
TAS, mmHg	109.2 ± 10.0	109.4 ± 9.7	0.96
TAD, mmHg	69.7 ± 6.3	70.4 ± 7.3	0.81
FC, lpm	71.7 ± 8.3	75.2 ± 13.8	0.46
Actividad Física, Kcal/día	2,678 ± 604	2,453 ± 436	0.30
Energía consumida, Kcal/día	1,669 ± 280	1,538 ± 324	0.31
Ingestión de HC, %Kcal	42.2 ± 10.8	43.8 ± 6.6	0.68
Ingestión de proteína, %Kcal	21.7 ± 6.1	21.3 ± 4.4	0.86
Ingestión de lípidos, %Kcal	35.6 ± 7.7	34.9 ± 6.6	0.82
Ingestión de azúcares, %Kcal	10.0 ± 5.0	8.6 ± 3.8	0.47
Glucosa en ayuno, mg/dL	87.8 ± 4.8	87.3 ± 6.3	0.83
Glucosa 2 h CTOG, mg/dL	89.0 ± 18.0	86.9 ± 17.2	0.77
Insulina en ayuno, mU/L	5.8 ± 1.8	6.8 ± 2.2	0.25
HOMA-IR	1.26 ± 0.41	1.47 ± 0.57	0.26
Colesterol total, mg/dL	170.0 ± 32.1	171.6 ± 22.0	0.88
Colesterol LDL, mg/dL	99.2 ± 19.6	101.2 ± 18.0	0.79
Colesterol HDL, mg/dL	53.5 ± 15.9	52.9 ± 12.6	0.92
Triglicéridos, mg/dL	86.4 ± 35.2	87.4 ± 31.3	0.94
Ácido úrico, mg/dL	4.8 ± 0.9	5.0 ± 1.3	0.55
Creatinina, mg/dL	0.89 ± 0.20	0.78 ± 0.13	0.15

Datos expresados como medias ± desviación estándar o medianas [rangos intercuartiles] de acuerdo a la distribución de las variables cuantitativas. Las variables cualitativas se describen en frecuencias y (porcentajes). IMC: índice de masa corporal; ICC: índice cintura cadera, DXA: absorciometría de rayos X de energía dual; MLG: masa libre de grasa; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; FC: frecuencia cardíaca; HC: hidratos de carbono; CTOG: curva de tolerancia oral a la glucosa, HOMA-IR: homeostasis model assessment insulin resistance; LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad. \*Pruebas estadísticas para las diferencias: t-student para variables paramétricas, U de Mann-Whitney para no paramétricas y chi cuadrada para cualitativas.

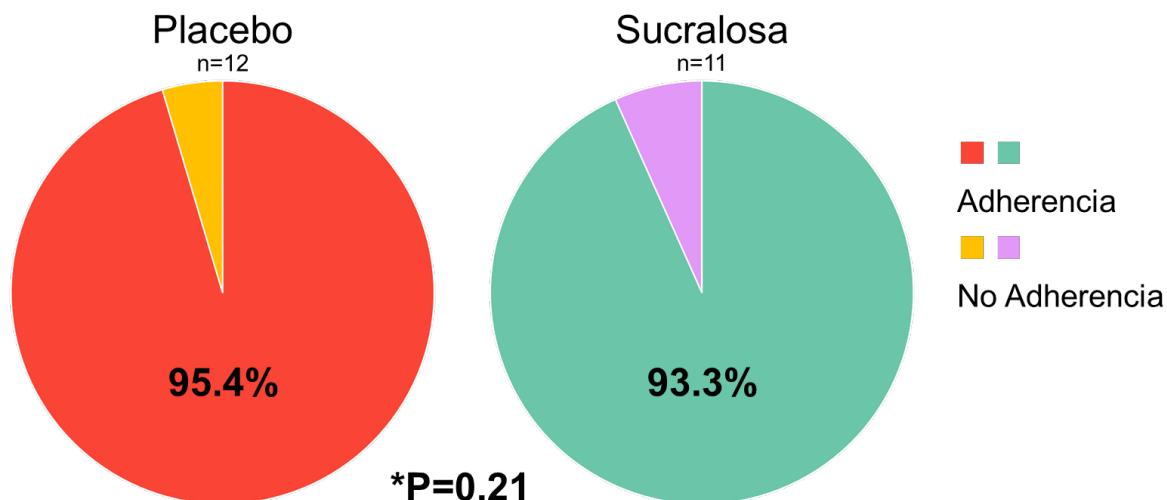


Figura 2. Porcentaje de adherencia en el consumo de cápsulas en ambos grupos.

\*Prueba estadística para las diferencias: t-student.

En la tabla II se observan los cambios en los desenlaces del objetivo principal del estudio, que son los parámetros evaluados en el CEH, es decir, en el valor M/I de ambas fases (sensibilidad a la insulina en hígado y en músculo esquelético) calculado por peso corporal total (PCT) y ajustado por MLG. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores basales de ambos grupos, al igual que entre los valores basales y finales en el grupo placebo. Sin embargo, en el grupo sucralosa se observó una reducción significativa ( $p<0.01$ ) en los valores M/I por PCT y por MLG para la evaluación de la sensibilidad a la insulina en hígado y en músculo esquelético. Al calcular los porcentajes de cambio en estas variables, se encontraron diferencias significativas entre los grupos para todas las variables de resultado, ya que la sensibilidad a la insulina en hígado (M/I por PCT) se redujo -3.9% [-25.4 a 24.5] en el grupo placebo y -44.7% [-61.6 a -26.8] en el grupo sucralosa ( $p<0.01$ ), observándose un efecto similar al ajustar el valor M/I por MLG (-6.2% [-32.3 a 28.5] en el grupo placebo y -41.8% [-50.0 a -26.2] en el grupo sucralosa;  $p<0.01$ ). En cuanto a la sensibilidad a la insulina en músculo esquelético (M/I por PCT) se redujo -8.3% [-28.4 a 30.9] en el grupo placebo y -41.3% [-50.9 a -29.1] en el grupo sucralosa ( $p<0.01$ ), reportándose una diferencia mayor al ajustar

el valor M/I por MLG (-3.0% [-26.7 a 25.6] en el grupo placebo y -46.5% [-67.4 a -31.4] en el grupo sucralosa;  $p<0.01$ ). Por lo tanto, ante este análisis estadístico, se rechaza la hipótesis nula al obtener una reducción mayor al 15% en el estado de sensibilidad a la insulina tanto en hígado como en músculo esquelético después del consumo del 30% de la IDA de sucralosa durante 30 días en sujetos aparentemente sanos en comparación con el placebo. En la figura 3, se representan con diagramas de cajas y bigotes las diferencias entre grupos en los porcentajes de cambio para todos los valores M/I.

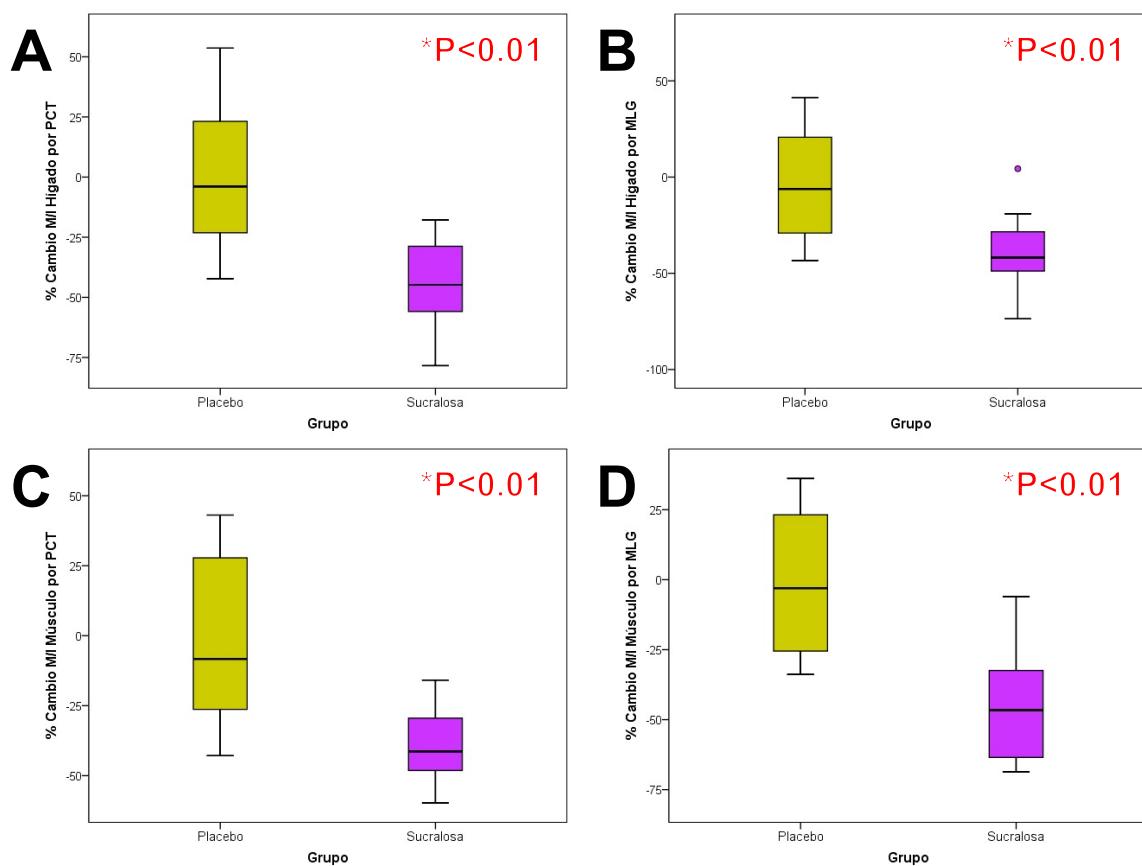


Figura 3. Diferencias en los porcentajes de cambio entre grupos para (A) Sensibilidad a la insulina en hígado por PCT, (B) por MLG, (C) Sensibilidad a la insulina en músculo esquelético por PCT y (D) por MLG. M/I: valor M ajustado por el promedio de la concentración de insulina en suero durante el periodo estable del clamp euglucémico hiperinsulinémico; PCT: peso corporal total; MLG: masa libre de grasa. \*Prueba estadística para las diferencias: U de Mann-Whitney.

Tabla II. Cambios en el valor M/I para la evaluación del estado de sensibilidad a la insulina en hígado y músculo esquelético durante el CEH después del consumo de cápsulas con placebo o sucralosa durante 30 días.

	Grupo Placebo (n=12)			Grupo Sucralosa (n=11)			p*	p°	p#	p&
	Basal	Final	%Cambio	Basal	Final	%Cambio				
M/I Hígado por PCT, 100 x mg·kg·min·(mU/L)	15.2 [10.7-17.7]	13.9 [8.8-18.7]	-3.9 [-25.4 a 24.5]	13.2 [10.6-18.1]	7.3 [5.4-10.3]	-44.7 [-61.6 a -26.8]	0.97	0.63	<0.01	<0.01
M/I Hígado por MLG, 100 x mg·kg·min·(mU/L)	14.6 [12.6-19.9]	14.3 [9.8-23.4]	-6.2 [-32.3 a 28.5]	18.9 [14.4-20.5]	9.6 [7.8-15.3]	-41.8 [-50.0 a -26.2]	0.51	0.87	<0.01	<0.01
M/I Músculo por PCT, 100 x mg·kg·min·(mU/L)	10.4 [8.1-12.1]	8.1 [3.2-12.2]	-8.3 [-28.4 a 30.9]	10.1 [7.1-12.3]	5.7 [4.6-8.6]	-41.3 [-50.9 a -29.1]	0.93	0.38	<0.01	<0.01
M/I Músculo por MLG, 100 x mg·kg·min·(mU/L)	14.4 [10.7-18.1]	12.1 [3.9-15.2]	-3.0 [-26.7 a 25.6]	15.4 [10.0-17.2]	7.4 [5.0-9.4]	-46.5 [-67.4 a -31.4]	1.00	0.48	<0.01	<0.01

Datos expresados como medianas [rangos intercuartiles] de acuerdo a la distribución de las variables. M/I: valor M ajustado por el promedio de la concentración de insulina en suero durante el periodo estable del CEH; CEH: clamp euglucémico hiperinsulinémico; PCT: peso corporal total; MLG: masa libre de grasa. \*Diferencia entre los valores basales de ambos grupos (prueba estadística para las diferencias: U de Mann-Whitney); °Diferencia entre el valor basal y final del grupo placebo (prueba estadística para las diferencias: Wilcoxon); #Diferencia entre el valor basal y final del grupo sucralosa (prueba estadística para las diferencias: Wilcoxon); &Diferencia entre los porcentajes de cambio entre los grupos (prueba estadística para las diferencias: U de Mann-Whitney).

Respecto al objetivo secundario de los efectos de la sucralosa en la microbiota intestinal, se analizó la biodiversidad bacteriana (heterogeneidad de una comunidad en base al número de especies presentes y su abundancia relativa) con el índice de Shannon, observándose una reducción significativa después del consumo de la sucralosa como se muestra en la figura 4 ( $p<0.0002$ ), sin detectarse cambios en el grupo placebo ( $p=0.2369$ ).

En la figura 5, se representa la composición de la microbiota intestinal por *phylums*, géneros y especies de bacterias a través del porcentaje de abundancia relativa antes y después de la intervención en ambos grupos. Al comparar la composición de la microbiota intestinal en el estado basal entre los grupos, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas ( $p\geq0.05$ ).

Posterior al periodo de intervención, en el grupo sucralosa se observó un aumento significativo en la abundancia relativa de los géneros *Anaerostipes* ( $p=0.03$ ), *Bacteroides* ( $p=0.03$ ) y *Odoribacter* ( $p=0.04$ ); al igual que una reducción significativa de los géneros *Prevotella* ( $p<0.01$ ), *Desulfovibrio* ( $p<0.01$ ) y *Lachnospira* ( $p=0.01$ ).

Respecto a la abundancia relativa por especies de bacterias, en el grupo sucralosa se detectó un aumento estadísticamente significativo de *Bacteroides fragilis* ( $p<0.01$ ), *Bacteroides plebeius* ( $p=0.02$ ), *Bacteroides uniformis* ( $p=0.02$ ), *Prevotella stercorea* ( $p=0.01$ ); así como una disminución significativa de *Ruminococcus bromii* ( $p<0.01$ ), *Ruminococcus gnavus* ( $p<0.01$ ), *Ruminococcus flavefaciens* ( $p=0.02$ ), *Coprococcus eutactus* ( $p=0.01$ ), *Butyrivibrio pullicaecorum* ( $p=0.02$ ), *Faecalibacterium prausnitzii* ( $p=0.02$ ) y *Defluviitalea saccharophila* ( $p=0.04$ ).

En el grupo placebo no se detectaron cambios estadísticamente significativos al finalizar la intervención en la abundancia relativa de ningún género o especie de bacterias en comparación con el estado basal ( $p\geq0.05$ ).

Aunado a esto, al realizar el análisis discriminante lineal para hacer una predicción de la probabilidad de ver este efecto de acuerdo a la asignación de ambas intervenciones, no se encontraron efectos significativos asociados al grupo placebo y, en el grupo de sucralosa, se observó un incremento significativo ( $p<0.05$ ) de *Bacteroides fragilis*, al igual que una disminución ( $p<0.05$ ) de *Ruminococcus bromii* y *Faecalibacterium prausnitzii* como se muestra en la figura 6.

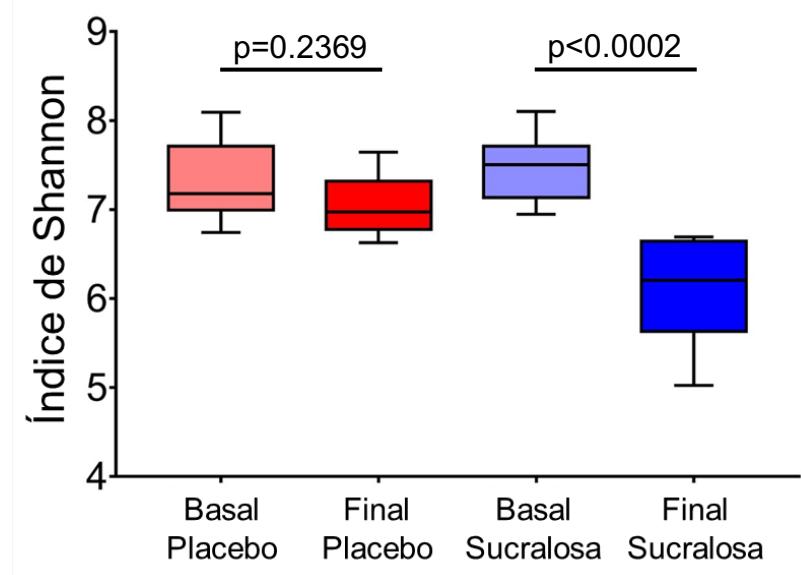


Figura 4. Cambios en el índice se Shannon después del consumo de cápsulas con placebo o sucralosa durante 30 días.

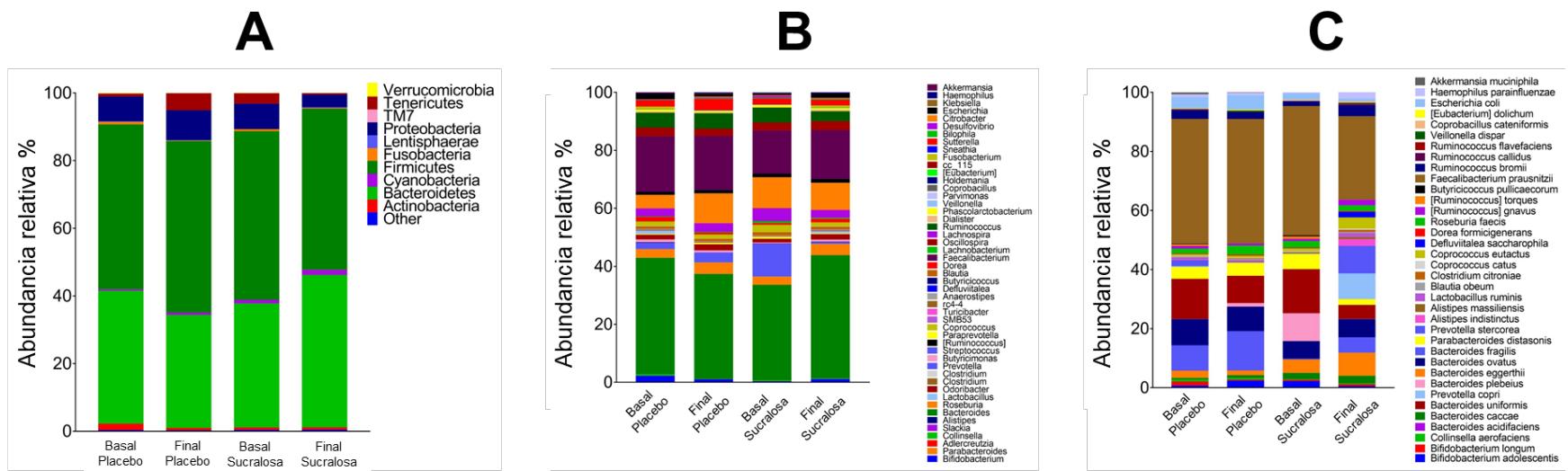


Figura 5. Cambios en la composición de la microbiota intestinal por (A) *Phylums*, (B) Géneros y (C) Especies de bacterias después del consumo de cápsulas con placebo o sucralosa durante 30 días.

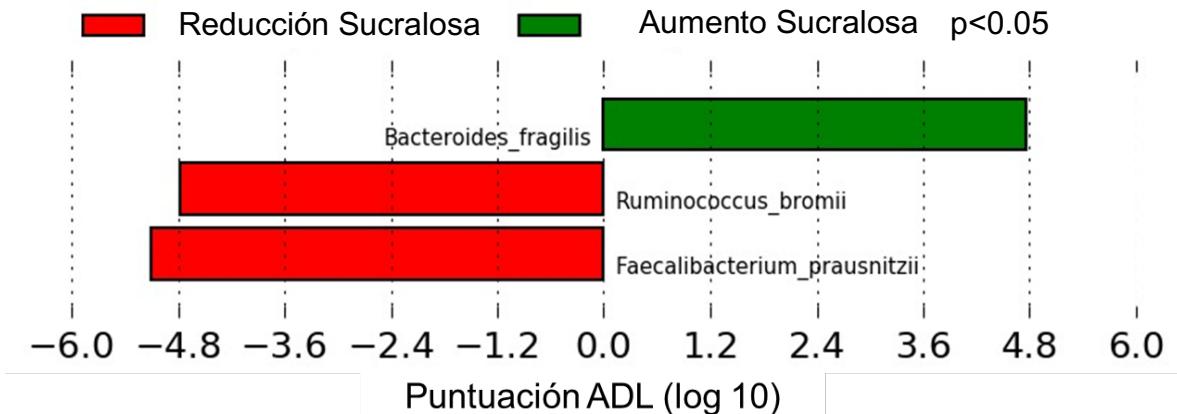


Figura 6. Cambios significativos identificados en la microbiota intestinal después del consumo de cápsulas de sucralosa durante 30 días, evaluados a través de la puntuación por análisis discriminante lineal (ADL).

En cuanto al segundo objetivo secundario, se analizaron los cambios en las concentraciones postprandiales de glucosa, insulina, GLP-1 total, péptido C, ghrelina activa y PYY total después de la ingestión de los desayunos estandarizados en las visitas 3 y 5. Las gráficas de las curvas antes y después del periodo de intervención en ambos grupos se muestran en las figuras 7, 8 y 9 para todos los desenlaces. Se encontró una tendencia a detectar diferencias ( $p=0.08$ ) entre la curva basal y final de glucosa en el grupo de sucralosa, al igual que en observar una mayor concentración de glucosa durante la curva final en los minutos 0, 30 y 60 ( $p\leq0.20$ ) en comparación con la curva basal. Sólo se observó de manera significativa ( $p<0.05$ ) una mayor concentración de glucosa en el minuto 90 durante la curva final en comparación con la basal. No se detectaron diferencias significativas entre las curvas basal y final en todos los demás desenlaces y se encontró una tendencia ( $p\leq0.20$ ) a observar mayores concentraciones durante la curva final en los minutos 30 y 60 para insulina y en el minuto 30 para GLP-1 en comparación con la curva final.

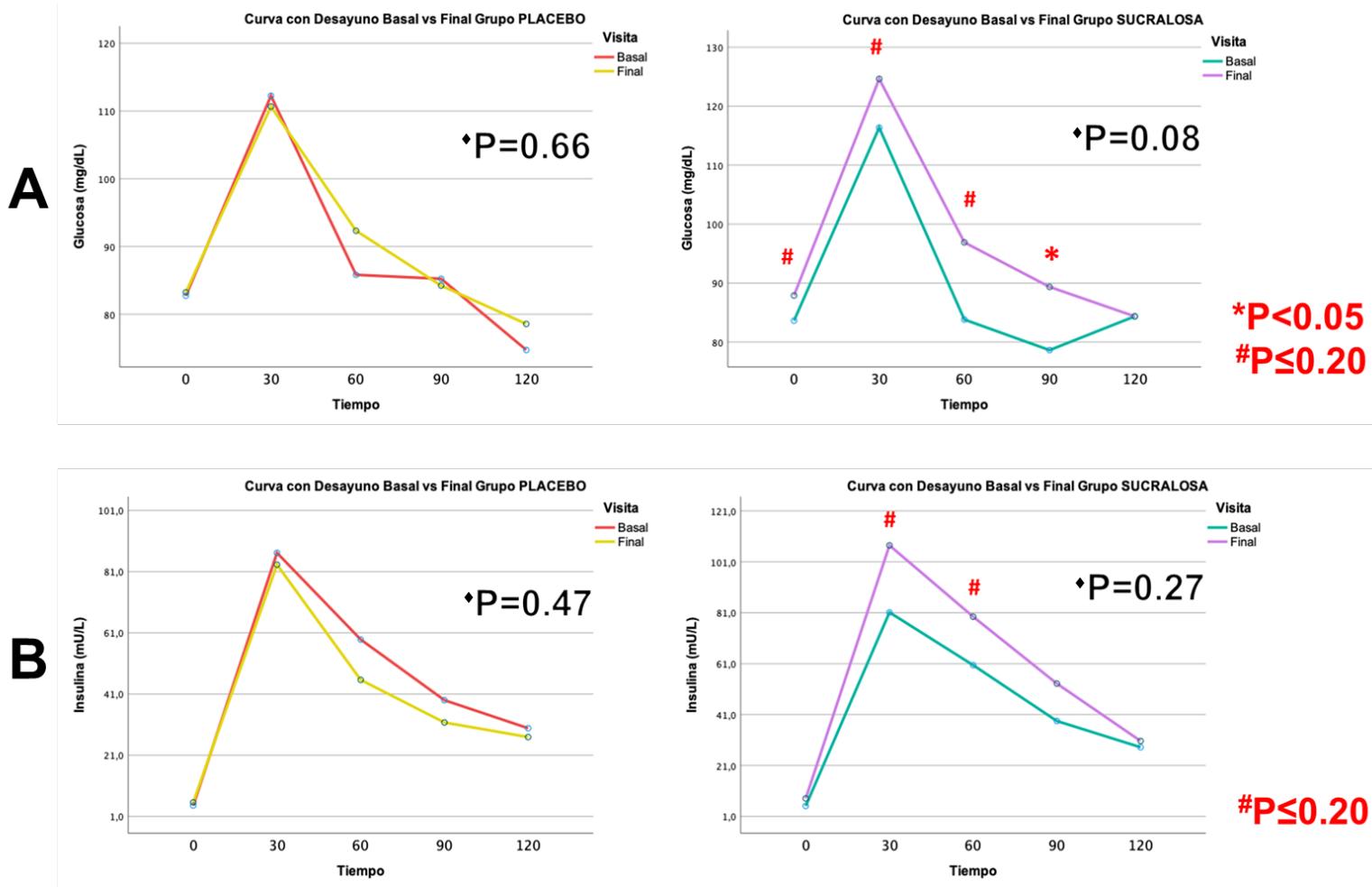


Figura 7. Cambios en las concentraciones postprandiales de (A) Glucosa y (B) Insulina después de la ingestión de un desayuno estandarizado posterior al consumo de placebo o sucralosa durante 30 días. \*Prueba estadística para las diferencias: ANOVA de medidas repetidas con análisis post hoc de Bonferroni.

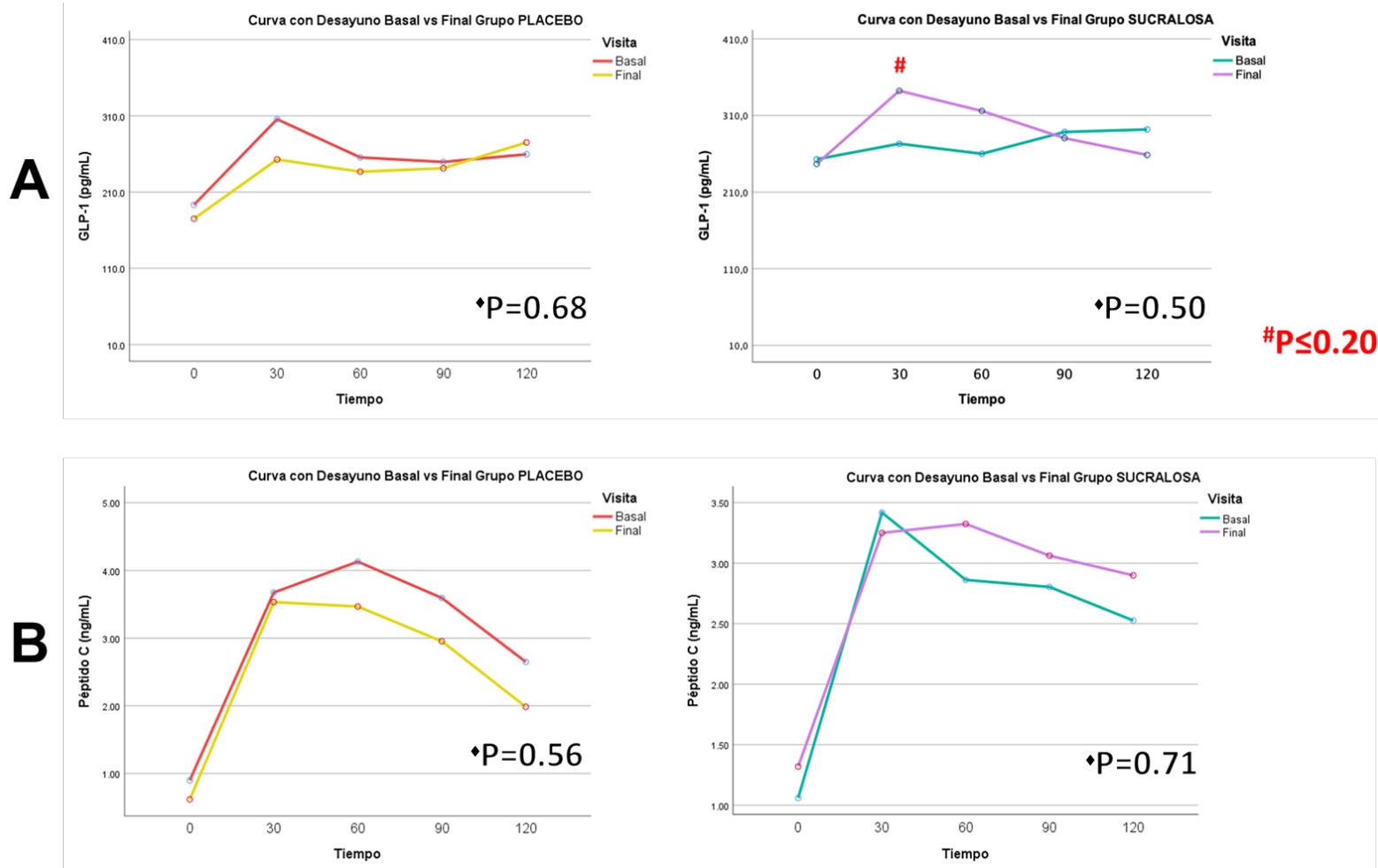


Figura 8. Cambios en las concentraciones postprandiales de (A) GLP-1 total y (B) Péptido C después de la ingestión de un desayuno estandarizado posterior al consumo de placebo o sucralosa durante 30 días. •Prueba estadística para las diferencias: ANOVA de medidas repetidas con análisis post hoc de Bonferroni.

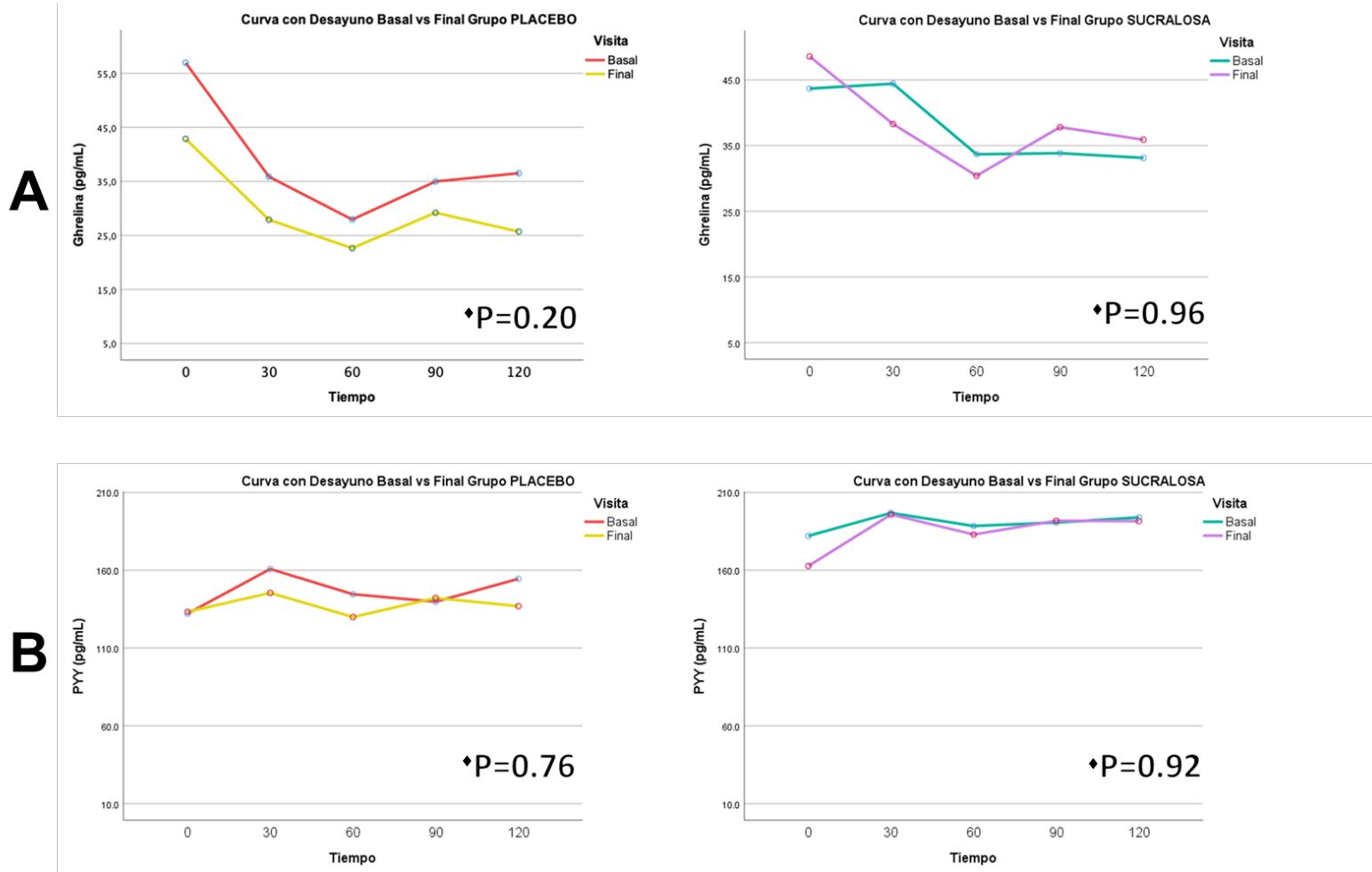


Figura 9. Cambios en las concentraciones postprandiales de (A) Ghrelin activa y (B) PYY total después de la ingestión de un desayuno estandarizado posterior al consumo de placebo o sucralosa durante 30 días. \*Prueba estadística para las diferencias: ANOVA de medidas repetidas con análisis post hoc de Bonferroni

En relación a este mismo objetivo, se calcularon las áreas bajo la curva totales (tAUC) e incrementales (iAUC) en ambas visitas para todos los desenlaces evaluados durante las pruebas de tolerancia a una comida mixta, reportándose los valores basales, finales, porcentajes de cambio y valores de p para las diferencias en las tablas III y IV. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las tAUC y las iAUC basales entre ambos grupos ni entre la comparación de las tAUC y las iAUC basales con las finales del grupo placebo en todas las variables de resultado medidas durante las curvas con el desayuno estandarizado. Dentro de los cambios en los parámetros de metabolismo de la glucosa que se muestran en la tabla III, en el grupo sucralosa se encontró al finalizar la intervención, un aumento del tAUC ( $p=0.01$ ) y del iAUC ( $p=0.02$ ) en la respuesta postprandial de glucosa, al igual que del tAUC ( $p=0.02$ ) y del iAUC ( $p=0.03$ ) en la respuesta postprandial de insulina. Este efecto también se reflejó en los porcentajes de cambio entre grupos, ya que el tAUC para la glucosa en el grupo sucralosa aumentó 27.2% [8.1 a 43.1] mientras que en el grupo placebo disminuyó -0.8% [-4.7 a 9.9] ( $p<0.01$ ), el iAUC para la glucosa en el grupo sucralosa incrementó 87.6% [11.6 a 287.5] mientras que en el grupo placebo 1.7% [-62.3 a 47.9] ( $p=0.04$ ), el tAUC para la insulina en el grupo de sucralosa aumentó 31.5% [18.4 a 52.7] mientras que en el grupo placebo disminuyó -6.5% [-20.3 a 9.3] ( $p<0.01$ ), el iAUC para la insulina en el grupo de sucralosa incrementó 28.9% [4.6 a 50.0] mientras que en el grupo placebo se redujo -7.9% [-31.4 a 6.2] ( $p=0.01$ ). No se encontraron cambios significativos en el péptido C para ambos grupos.

En cuanto a los cambios en las hormonas reguladoras del apetito que se muestran en la tabla IV, se identificó una tendencia a observar un incremento en el tAUC para GLP-1 total al finalizar la intervención en grupo de sucralosa ( $p=0.09$ ) y casi alcanzó la significancia estadística el porcentaje de cambio entre grupos para este mismo desenlace, ya que en el grupo sucralosa aumentó 31.3% [-2.9 a 49.0] mientras que en el grupo placebo se redujo -5.6% [-27.3 a 26.4] ( $p=0.05$ ). El único cambio significativo fue el aumento en el iAUC para GLP-1 total en el grupo sucralosa ( $p=0.04$ ) aunque el porcentaje de cambio entre grupos para este desenlace no alcanzó la significancia estadística, a pesar de que en el grupo

sucralosa se incrementó 45.5% [-95.7 a 143.6] mientras que en el grupo placebo disminuyó -13.3% [-68.0 a 43.5] ( $p=0.21$ ). Los cambios observados en las concentraciones postprandiales de ghrelina activa y PYY total no fueron significativos con ambas intervenciones.

Adicionalmente, se calculó el índice de Matsuda con las concentraciones postprandiales de glucosa e insulina durante la prueba de tolerancia a una comida mixta para evaluar los cambios en la sensibilidad a la insulina. No se detectaron cambios en el índice de Matsuda después del periodo de intervención en el grupo placebo ( $p=0.75$ ), sin embargo, se observó una disminución estadísticamente significativa en el grupo sucralosa, pasando de un valor basal de 9.5 [8.0 a 10.0] a un valor final de 5.7 [4.2 a 6.3] ( $p=0.02$ ). Esta diferencia persistió de manera significativa al comparar los porcentajes de cambio entre grupos para este índice, ya que en el grupo sucralosa se redujo -32.8% [-53.5 a -22.0] y en el grupo placebo -4.9 [-15.5 a 17.7] ( $p=0.01$ ).

Los resultados relacionados con los factores proinflamatorios se muestran en la tabla V. No se detectaron cambios significativos para IL-6 y TNF- $\alpha$  ni en los valores basales entre los grupos ni entre los valores basales y finales en cada grupo ni en los porcentajes de cambio entre los grupos. La PCR mostró un aumento significativo ( $p=0.03$ ) en el grupo de sucralosa, ya que pasó de un valor de 0.066 mg/dL [0.029-0.077] a 0.075 mg/dL [0.037-0.101], sin embargo, el porcentaje de cambio entre grupos para esta variable no fue estadísticamente diferente ( $p=0.11$ ), a pesar de que en el grupo sucralosa se incrementó 23.3% [9.9 a 68.1]. También se encontró un incremento estadísticamente significativo en las concentraciones de LPS en el grupo sucralosa. Los cambios en las concentraciones de LPS se muestran gráficamente en la figura 10.

Tabla III. Cambios en el tAUC y el iAUC de glucosa, insulina y péptido C durante pruebas de tolerancia a una comida mixta posterior al consumo de cápsulas con placebo o sucralosa durante 30 días.

	Grupo Placebo (n=12)			Grupo Sucralosa (n=11)			p*	p°	p#	p&
	Basal	Final	%Cambio	Basal	Final	%Cambio				
tAUC Glucosa, mg/dL•120 min	184.6 [153.4 a 202.7]	179.0 [171.4 a 194.3]	-0.8 [-4.7 a 9.9]	180.8 [177.8 a 194.5]	195.3 [185.5 a 219.8]	27.2 [8.1 a 43.1]	0.71	0.87	<b>0.01</b>	<b>&lt;0.01</b>
iAUC Glucosa, mg/dL•120 min	20.1 [-3.9 a 37.2]	24.1 [-11.2 a 36.2]	1.7 [-62.3 a 47.9]	20.8 [3.8 a 38.8]	43.3 [27.5 a 49.6]	87.6 [11.6 a 287.5]	0.63	0.38	<b>0.02</b>	<b>0.04</b>
tAUC Insulina, mU/L•120 min	76.0 [62.1 a 115.2]	76.8 [54.4 a 114.3]	-6.5 [-20.3 a 9.3]	77.4 [60.7 a 91.3]	109.4 [97.1 a 136.0]	31.5 [18.4 a 52.7]	0.97	0.28	<b>0.02</b>	<b>&lt;0.01</b>
iAUC Insulina, mU/L•120 min	71.3 [58.3 a 135.2]	71.2 [53.4 a 105.5]	-7.9 [-31.4 a 6.2]	65.0 [52.9 a 81.9]	94.2 [78.9 a 121.0]	28.9 [4.6 a 50.0]	0.55	0.27	<b>0.03</b>	<b>0.01</b>
tAUC Péptido C, ng/mL•120 min	5.3 [3.3 a 7.3]	4.9 [3.9 a 8.1]	3.6 [-14.4 a 34.5]	5.6 [3.3 a 6.4]	5.9 [4.9 a 8.2]	17.5 [-9.8 a 50.0]	1.00	0.63	0.23	0.44
iAUC Péptido C, ng/mL•120 min	3.4 [2.4 a 5.6]	3.0 [1.9 a 6.0]	-1.1 [-29.0 a 27.5]	3.0 [1.9 a 4.2]	3.5 [2.2 a 5.1]	14.5 [-10.1 a 99.8]	0.61	0.75	0.37	0.41

Datos expresados como medianas [rangos intercuartiles] de acuerdo a la distribución de las variables. tAUC: área bajo la curva total; iAUC: área bajo la curva incremental; ng: nanogramos. \*Diferencia entre los valores basales de ambos grupos (prueba estadística para las diferencias: U de Mann-Whitney); °Diferencia entre el valor basal y final del grupo placebo (prueba estadística para las diferencias: Wilcoxon); #Diferencia entre el valor basal y final del grupo sucralosa (prueba estadística para las diferencias: Wilcoxon); #Diferencia entre los porcentajes de cambio entre los grupos (prueba estadística para las diferencias: U de Mann-Whitney).

Tabla IV. Cambios en el tAUC y el iAUC de GLP-1 total, ghrelina activa y PYY total durante pruebas de tolerancia a una comida mixta posterior al consumo de cápsulas con placebo o sucralosa durante 30 días.

	Grupo Placebo (n=12)			Grupo Sucralosa (n=11)			p*	p°	p#	p&
	Basal	Final	%Cambio	Basal	Final	%Cambio				
tAUC GLP-1, pg/mL•120 min	478.6 [380.0 a 572.7]	388.7 [349.1 a 700.5]	-5.6 [-27.3 a 26.4]	483.5 [315.6 a 715.4]	645.0 [486.3 a 789.7]	31.3 [-2.9 a 49.0]	0.97	0.90	0.09	0.05
iAUC GLP-1, pg/mL•120 min	94.7 [53.6 a 126.5]	97.7 [48.0 a 218.3]	-13.3 [-68.0 a 43.5]	78.9 [-56.3 a 149.1]	163.5 [38.9 a 263.1]	45.5 [-95.7 a 143.6]	0.57	0.93	<b>0.04</b>	0.21
tAUC Ghrelina, pg/mL•120 min	65.2 [44.0 a 105.1]	67.8 [37.7 a 82.1]	-4.0 [-39.8 a 23.4]	59.7 [30.1 a 87.9]	63.8 [33.3 a 110.0]	-4.4 [-24.1 a 60.6]	0.88	0.55	0.85	0.97
iAUC Ghrelina, pg/mL•120 min	-6.1 [-95.5 a 19.7]	-27.8 [-55.1 a 45.6]	-88.9 [-147.5 a 36.0]	1.6 [-24.4 a 15.4]	-3.9 [-34.4 a 33.0]	-3.1 [-208.5 a 247.4]	0.55	0.31	1.00	0.26
tAUC PYY, pg/mL•120 min	280.4 [220.9 a 430.5]	264.3 [187.7 a 381.2]	-3.6 [-19.0 a 1.9]	269.8 [248.4 a 654.6]	279.5 [232.7 a 648.1]	-0.8 [-12.3 a 6.1]	1.75	0.30	0.59	0.69
iAUC PYY, pg/mL•120 min	23.7 [4.8 a 38.4]	5.6 [-47.8 a 76.2]	-12.5 [-136.8 a 158.5]	24.2 [11.6 a 41.9]	32.9 [13.1 a 86.8]	3.5 [-134.2 a 131.0]	0.51	0.25	0.28	0.80

Datos expresados como medianas [rangos intercuartiles] de acuerdo a la distribución de las variables. tAUC: área bajo la curva total; iAUC: área bajo la curva incremental; GLP-1: péptido similar al glucagón tipo 1; PYY: péptido tirosina tirosina; pg: picogramos. \*Diferencia entre los valores basales de ambos grupos (prueba estadística para las diferencias: U de Mann-Whitney); °Diferencia entre el valor basal y final del grupo placebo (prueba estadística para las diferencias: Wilcoxon); #Diferencia entre el valor basal y final del grupo sucralosa (prueba estadística para las diferencias: Wilcoxon); #Diferencia entre los porcentajes de cambio entre los grupos (prueba estadística para las diferencias: U de Mann-Whitney).

Tabla V. Cambios en las concentraciones de los factores proinflamatorios posterior al consumo de cápsulas con placebo o sucralosa durante 30 días.

	Grupo Placebo (n=12)			Grupo Sucralosa (n=11)			p*	p°	p#	p&
	Basal	Final	%Cambio	Basal	Final	%Cambio				
IL-6, pg/mL	3.67 [1.04-66.88]	2.16 [1.13-60.93]	-15.2 [-69.2 a 38.4]	4.71 [1.47-163.1]	5.17 [2.40-160.77]	9.5 [-28.3 a 189.1]	0.51	0.24	0.37	0.42
TNF-α, pg/mL	2.60 [2.02-3.50]	2.95 [2.22-3.67]	2.2 [-20.2 a 57.5]	2.60 [2.30-3.60]	3.30 [2.20-4.00]	11.1 [-15.3 a 43.4]	0.44	0.96	0.35	0.48
PCR, mg/dL	0.037 [0.021-0.103]	0.038 [0.022-0.117]	-11.8 [-29.9 a 20.1]	0.066 [0.029-0.077]	0.075 [0.037-0.101]	23.3 [9.9 a 68.1]	0.29	0.59	<b>0.03</b>	0.11
LPS, ng/mL	135.6 [52.8-593.6]	134.6 [62.4-474.3]	11.5 [-2.6 a 43.6]	146.6 [50.1-641.7]	1678.9 [1482.8-3564.4]	2899.2 [219.7 a 3600.9]	0.96	0.83	<b>&lt;0.01</b>	<b>&lt;0.01</b>

Datos expresados medianas [rangos intercuartiles] de acuerdo a la distribución de las variables. IL-6: interleucina 6; TNF-α: factor de necrosis tumoral alfa; PCR: proteína C reactiva; LPS: lipopolisacárido; pg: picogramos; ng: nanogramos. \*Diferencia entre los valores basales de ambos grupos (prueba estadística para las diferencias: U de Mann-Whitney); °Diferencia entre el valor basal y final del grupo placebo (prueba estadística para las diferencias: Wilcoxon); #Diferencia entre el valor basal y final del grupo sucralosa (prueba estadística para las diferencias: Wilcoxon); #Diferencia entre los porcentajes de cambio entre los grupos (prueba estadística para las diferencias: U de Mann-Whitney).

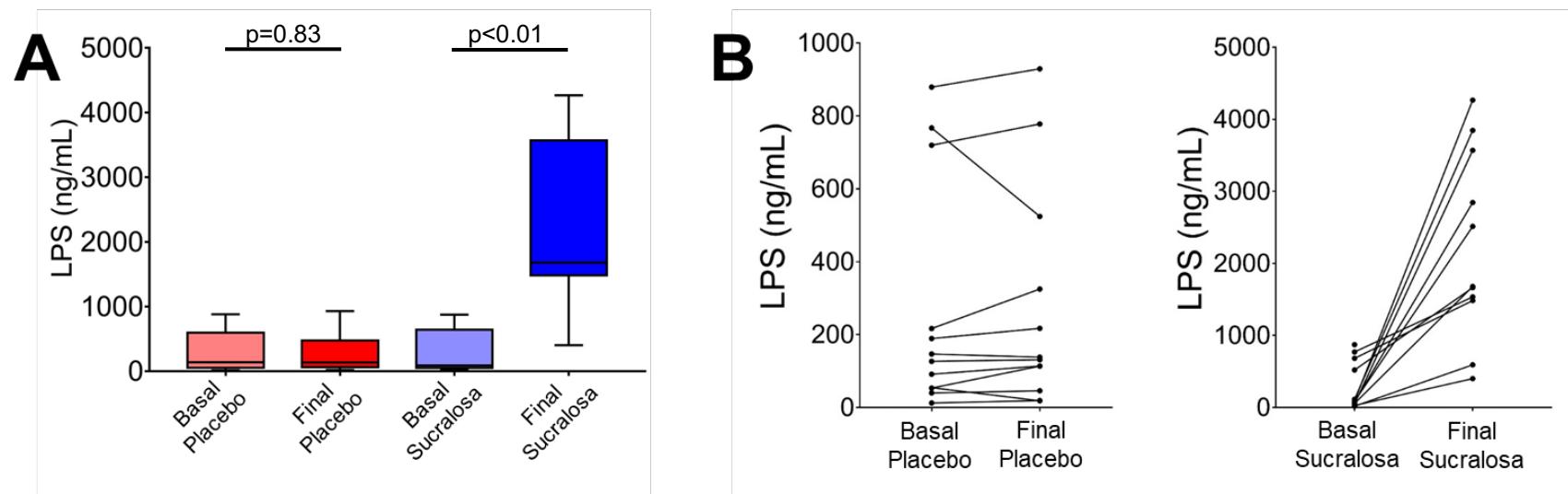


Figura 10. Cambios en las concentraciones de lipopolisacárido (LPS) representados de forma (A) Grupal y (B) Individual después del consumo de cápsulas con placebo o sucralosa durante 30 días.

En la tabla VI se muestran las maniobras periféricas preestablecidas de la misma forma en ambos grupos durante el periodo de intervención para la aplicación y control adecuado de la maniobra principal (consumo de sucralosa o placebo). Estas variables incluyen los cambios en el peso corporal, los cambios en los hábitos dietéticos (consumo energético y de hidratos de carbono, proteína, lípidos y azúcares) y los cambios en la actividad física realizada durante el periodo de intervención. No se encontraron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) en los cambios de estas maniobras periféricas comparando los valores basales con los valores finales en cada grupo y comparando los porcentajes de cambio entre los grupos, por lo que el control de estos factores durante el periodo de intervención fue similar en ambos grupos y podría asumirse que tuvieron poco impacto en los resultados obtenidos.

Para analizar cambios en el perfil de lípidos, se compararon las concentraciones basales (evaluadas en la visita 1) y se les citó a los participantes a una visita post-intervención (visita 6, un mes después de finalizar el consumo de las cápsulas) para volver a medir las concentraciones de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL y triglicéridos; además de la glucosa e insulina en ayuno. Los cambios en estos parámetros se muestran en la tabla VII, observándose en el grupo de sucralosa un aumento estadísticamente significativo en el colesterol total ( $172.3 \pm 23.0$  vs  $183.8 \pm 32.4$ ;  $p=0.02$ ) y una tendencia a un aumento del colesterol LDL ( $100.8 \pm 18.8$  vs  $110.6 \pm 20.8$ ;  $p=0.05$ ); sin embargo, los porcentajes de cambio entre grupos mostraron una tendencia a ser diferentes en el colesterol total ( $p=0.07$ ) y fueron significativamente diferentes en el colesterol LDL ( $p=0.03$ ), con un aumento del 7.7% [1.9 a 18.4] en el grupo sucralosa y una disminución del -3.1% [-16.1 a 4.4] en el grupo placebo. No se detectaron cambios en el colesterol HDL, triglicéridos, glucosa e insulina en ayuno, sin embargo, se observó un aumento significativo en el HOMA-IR del grupo sucralosa ( $p=0.01$ ), pasando de un valor basal de  $1.04 \pm 0.18$  a un valor final de  $1.74 \pm 0.83$ . A pesar de esto, el porcentaje de cambio entre grupos para el HOMA-IR no fue estadísticamente diferente ( $p=0.34$ ).

Tabla VI. Maniobras periféricas para la implementación adecuada de las intervenciones en ambos grupos.

	Grupo Placebo (n=12)			Grupo Sucralosa (n=11)			p*	p°	p#
	Basal	Final	%Cambio	Basal	Final	%Cambio			
Peso, kg	64.9 ± 11.2	64.7 ± 11.2	-0.3 [-1.7 a 1.1]	59.3 ± 8.6	59.4 ± 8.2	0.3 [-1.2 a 0.9]	0.65	0.74	0.56
Energía, Kcal/día	1,669 ± 280	1,643 ± 357	-4.8 [-15.8 a 10.6]	1,538 ± 324	1,610 ± 485	1.8 [-19.8 a 23.7]	0.77	0.58	0.69
HC, %Kcal	42.2 ± 10.8	45.7 ± 12.0	7.0 [-16.5 a 22.5]	43.8 ± 6.6	44.0 ± 9.2	1.6 [-9.7 a 13.8]	0.22	0.91	0.56
Azúcares, %Kcal	10.0 ± 5.0	10.3 ± 6.8	-4.6 [-54.2 a 32.5]	8.6 ± 3.8	8.8 ± 3.7	-7.5 [-24.8 a 33.1]	0.84	0.91	0.65
Fibra, g/día	18.4 ± 10.3	18.3 ± 9.9	-6.2 [-28.0 a 41.4]	21.0 ± 8.4	22.7 ± 9.4	7.6 [-1.9 a 28.0]	0.95	0.24	0.34
Proteína, %Kcal	21.7 ± 6.1	21.5 ± 6.3	-4.2 [-8.3 a 16.4]	21.3 ± 4.4	20.3 ± 3.7	-5.1 [-21.4 a 6.7]	0.89	0.51	0.78
Lípidos, %Kcal	35.6 ± 7.7	32.7 ± 7.7	-2.1 [-25.5 a 10.6]	34.9 ± 6.6	35.5 ± 8.5	4.2 [-8.9 a 18.9]	0.21	0.80	0.34
AGS, %Kcal	6.4 ± 1.8	5.8 ± 1.9	-1.2 [-16.3 a 17.4]	6.2 ± 2.2	7.0 ± 2.0	12.5 [-8.2 a 36.4]	0.40	0.26	0.26
AGPI, %Kcal	4.1 ± 2.0	4.1 ± 2.0	-11.8 [-40.0 a 70.5]	3.2 ± 1.5	3.2 ± 2.4	7.5 [-30.6 a 30.1]	0.94	0.98	0.97
AF, Kcal/día	2,678 ± 604	2,587 ± 465	-2.3 [-8.2 a 4.3]	2,431 ± 451	2,340 ± 390	-3.3 [-7.9 a 4.9]	0.29	0.23	0.83

Datos expresados como medias ± desviación estándar o medianas [rangos intercuartiles] de acuerdo a la distribución de las variables. HC: hidratos de carbono; AGS: ácidos grasos saturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; AF: actividad física. \*Diferencia entre el valor basal y final del grupo placebo (prueba estadística: t-pareada); °Diferencia entre el valor basal y final del grupo sucralosa (prueba estadística: t-pareada); #Diferencia entre los porcentajes de cambio entre los grupos (prueba estadística: U de Mann-Whitney).

Tabla VII. Cambios en el perfil de lípidos, glucosa e insulina en ayuno evaluados un mes después de finalizar el consumo de las cápsulas en ambos grupos durante 30 días.

	Grupo Placebo (n=12)			Grupo Sucralosa (n=11)			p*	p°	p#
	Basal	Final	%Cambio	Basal	Final	%Cambio			
CT, mg/dL	170.0 ± 32.1	165.6 ± 26.1	-1.3 [-12.6 a 7.0]	172.3 ± 23.0	183.8 ± 32.4	6.3 [1.8 a 9.0]	0.49	<b>0.02</b>	0.07
	99.2 ± 19.6	93.9 ± 18.3	-3.1 [-16.1 a 4.4]	100.8 ± 18.8	110.6 ± 20.8	7.7 [1.9 a 18.4]	0.24	0.05	<b>0.03</b>
C-HDL, mg/dL	53.5 ± 15.9	54.7 ± 15.9	-1.4 [-9.7 a 25.0]	53.6 ± 12.9	54.4 ± 13.2	3.9 [-3.6 a 14.2]	0.63	0.75	0.69
	86.4 ± 35.2	81.6 ± 36.6	-9.6 [-21.0 a 33.7]	89.6 ± 31.8	93.4 ± 26.9	6.3 [-15.4 a 34.2]	0.68	0.54	0.48
Glucosa, mg/dL	87.8 ± 4.8	87.6 ± 7.3	0.0 [-3.2 a 0.8]	86.7 ± 6.2	89.0 ± 7.4	1.1 [-2.1 a 6.4]	0.88	0.20	0.21
	5.8 ± 1.8	6.2 ± 2.6	-7.0 [-26.6 a 63.9]	6.7 ± 2.3	6.6 ± 2.7	-9. [-22.7 a 5.8]	0.69	0.84	0.92
HOMA-IR	0.93 ± 0.34	1.15 ± 0.48	29.2 [-21.9 a 52.0]	1.04 ± 0.18	1.74 ± 0.83	42.7 [5.7 a 139.5]	0.21	<b>0.01</b>	0.34

Datos expresados como medias ± desviación estándar o medianas [rangos intercuartiles] de acuerdo a la distribución de las variables. CT: colesterol total, LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos. \*Diferencia entre el valor basal y final del grupo placebo (prueba estadística para las diferencias: t-pareada); °Diferencia entre el valor basal y final del grupo sucralosa (prueba estadística para las diferencias: t-pareada); #Diferencia entre los porcentajes de cambio entre los grupos (prueba estadística para las diferencias: U de Mann-Whitney).

Finalmente, respecto al último objetivo secundario del estudio, se exploraron los efectos secundarios reportados por el consumo de las cápsulas en ambos grupos, de acuerdo al formato de apego a la intervención, se encontró que los síntomas experimentados fueron náuseas, cefalea, distensión abdominal, diarrea, sed y mareo. El número de participantes que experimentaron estos síntomas en cada uno de los grupos se muestra en la tabla VIII. Al hacer la comparación entre grupos, se observó mayor proporción ( $p=0.03$ ) de participantes que experimentaron distensión abdominal (36.4%) y una tendencia a observar una mayor proporción ( $p=0.09$ ) de participantes que experimentaron cefalea (27.3%) ante el consumo de sucralosa en comparación con el grupo placebo (0%). La frecuencia de los demás síntomas fue baja (un participante en cada uno de los grupos), por lo que no mostraron diferencias estadísticamente significativas y no podría asociarse su presencia al consumo de sucralosa o placebo.

Tabla VIII. Comparación de los efectos secundarios reportados por el consumo de las cápsulas de intervención en ambos grupos (sucralosa o placebo).

	Grupo Placebo (n=12)	Grupo Sucralosa (n=11)	p*
Náuseas, n (%)	1 (8.3%)	1 (9.1%)	0.73
Cefalea, n (%)	0 (0%)	3 (27.3%)	0.09
Distensión abdominal, n (%)	0 (0%)	4 (36.4%)	<b>0.03</b>
Diarrea, n (%)	0 (0%)	1 (9.1%)	0.47
Sed, n (%)	1 (8.3%)	0 (0%)	0.52
Mareo, n (%)	0 (0%)	1 (9.1%)	0.47

Datos expresados como frecuencias y porcentajes. \*Prueba estadística para las diferencias: prueba exacta de Fisher.

## **DISCUSIÓN**

Los resultados obtenidos en las variables principales de interés demuestran que el consumo del 30% de la IDA de sucralosa durante 30 días en sujetos aparentemente sanos disminuye significativamente el estado de sensibilidad a la insulina a nivel de hígado y de músculo esquelético en comparación con el placebo, evaluado a través del valor M/I ajustado por PCT y MLG durante un CEH. Aunado a esto, también se observaron cambios significativos posterior al consumo de la sucralosa en distintos desenlaces secundarios como la microbiota intestinal, identificándose una reducción significativa de la biodiversidad bacteriana evaluada con el índice de Shannon, así como un incremento en la abundancia relativa de *Bacteroides fragilis* al igual que una disminución de *Ruminococcus bromii* y *Faecalibacterium prausnitzii*. Respecto a la respuesta postprandial observada durante pruebas de tolerancia a una comida mixta, se encontraron mayores concentraciones de glucosa e insulina después de la intervención con la sucralosa, reportándose un incremento significativo en el tAUC y en el iAUC de estos dos parámetros en comparación con el grupo placebo. Solamente se detectó un aumento significativo en el iAUC de GLP-1 en el grupo de sucralosa, sin ser estadísticamente diferente el porcentaje de cambio en comparación con el grupo placebo. No se observaron cambios significativos en las concentraciones postprandiales de péptido C, ghrelina y PYY en ninguno de los grupos.

En cuanto a los marcadores inflamatorios, el LPS mostró un aumento significativo en el grupo de sucralosa en comparación con el grupo placebo. La PCR también se incrementó en el grupo sucralosa pero el porcentaje de cambio entre grupos no fue estadísticamente diferente. Las otras citocinas proinflamatorias evaluadas, IL-6 y TNF- $\alpha$ , no mostraron cambios posterior a la intervención. Finalmente, el consumo de sucralosa se asoció con la presencia de distensión abdominal, ya que este síntoma fue reportado por 4 participantes que recibieron esta intervención y ningún participante del grupo placebo percibió distensión abdominal asociada al consumo de las cápsulas. La cefalea mostró una tendencia a asociarse al consumo de sucralosa sin alcanzar la significancia estadística.

Los hallazgos de este estudio son consistentes con lo que se ha reportado en la literatura científica en los últimos años con relación a los efectos de la sucralosa en el metabolismo de la glucosa. Específicamente en el desenlace de la sensibilidad a la insulina, desde el año 2013, Pepino y col. demostraron que de forma aguda, el consumo de 48 mg de sucralosa durante una CTOG de 5 horas produce una disminución del  $23 \pm 20\%$  de la sensibilidad a la insulina, evaluada a través del modelo mínimo (67). Esta disminución de la tolerancia a la glucosa se vio reflejada durante la curva, observándose mayor pico incremental de glucosa ( $p=0.03$ ) y mayor iAUC de insulina ( $p<0.03$ ). No obstante, este estudio fue criticado metodológicamente al detectar este cambio con una sola exposición al ENN y al realizar el ensayo en sujetos con obesidad mórbida.

Posteriormente, Lertrit y col. confirmaron este hallazgo pero con una exposición de 200 mg/día de sucralosa a través de cápsulas durante 4 semanas en sujetos aparentemente sanos, sin embargo, el 46.7% de la muestra tenía sobrepeso u obesidad. El grupo control recibió simplemente cápsulas vacías, el estudio tuvo un diseño cruzado con una semana como periodo de lavado y se realizaron CTOG y FSIVGTT antes y después de la intervención. Se observó que con el consumo de sucralosa se redujeron significativamente ( $p<0.01$ ) los valores de los índices Matsuda y HOMA-%S (que miden sensibilidad a la insulina) a la par que aumentaron significativamente ( $p<0.01$ ) los valores del HOMA-IR (que mide resistencia a la insulina), del índice insulinogénico y del HOMA-%B (que miden secreción de insulina y función de la célula beta) (45). En el ensayo clínico aleatorizado paralelo que realizó previamente nuestro grupo de investigación, también se utilizó la FSIVGTT y el modelo mínimo para analizar los cambios en distintos parámetros del metabolismo de la glucosa posterior al consumo del 15% de la IDA de sucralosa durante 14 días en individuos delgados aparentemente sanos. En este caso, se observó una disminución neta del 15% del índice de sensibilidad a la insulina en comparación con el grupo control ( $p=0.04$ ) aunado a que, en el análisis por protocolo, se detectó un aumento significativo de la respuesta pancreática en el grupo de sucralosa ( $p=0.04$ ), evidenciando así, una mayor secreción de insulina en los participantes con buena adherencia a la intervención (46).

Hasta el momento, estos tres ensayos clínicos son los que han evaluado cambios en la sensibilidad a la insulina más allá del uso de índices simples subrogados. No obstante, los resultados en torno a menor tolerancia a la glucosa han continuado replicándose en otros estudios que de igual forma reportaron incrementos significativos en las concentraciones de glucosa e insulina durante CTOG posterior al consumo de sucralosa a diferentes dosis (desde 48 hasta 96 mg/día) y con periodos de intervención variados (desde 2 hasta 10 semanas) (69,70,91).

En el presente estudio, a diferencia de los ensayos previamente mencionados, la intervención se realizó con una dosis mayor (30% de la IDA de sucralosa, correspondiente a  $245.7 \pm 16.0$  mg/día) y por un periodo de 30 días en sujetos jóvenes, delgados y aparentemente sanos que habitualmente tienen un consumo bajo de ENN. Hasta el momento, ningún ensayo clínico ha utilizado al CEH como método de evaluación de la sensibilidad a la insulina para explorar los efectos de la exposición repetida al consumo de sucralosa en esta variable, lo cual aumenta la calidad metodológica de este trabajo al analizar este desenlace con su estándar de oro. De acuerdo a los resultados obtenidos, la sucralosa tiene un efecto reductor de la sensibilidad a la insulina a nivel hepático del 40.8% al comparar los cambios que se observaron en esta variable en el grupo sucralosa en comparación con el grupo placebo (-44.7% vs -3.9%;  $p<0.01$ ). Si se ajustan los valores M/I por MLG, la disminución neta de la sensibilidad a la insulina a nivel hepático por efecto del consumo de sucralosa se reduce al 35.6%, sin embargo, el efecto continúa siendo estadísticamente significativo entre grupos ( $p<0.01$ ). El impacto del consumo de sucralosa en la sensibilidad a la insulina a nivel de músculo esquelético fue muy similar a lo reportado a nivel hepático, ya que genera una disminución del 33.0% al comparar los porcentajes de cambio de esta variable en el grupo sucralosa en comparación con el grupo placebo (-41.3% vs -8.3%;  $p<0.01$ ). En contraste con lo que se observó a nivel hepático, si los valores M/I de sensibilidad a la insulina en músculo esquelético se ajustan por MLG, la reducción neta generada por el consumo de sucralosa en este desenlace se aumenta al 43.5%, siendo aún más significativa la diferencia entre grupos ( $p<0.01$ ).

Como ya se mencionó previamente, los resultados de este estudio van en el mismo sentido que los descubrimientos encontrados en los ensayos clínicos de los últimos 10 años que se han enfocado en analizar el efecto del consumo de la sucralosa en la sensibilidad a la insulina. De tal forma que, esto fortalece y genera mayor sustento científico para considerar como verdadera la hipótesis de que este ENN tiene un impacto negativo en el metabolismo de la glucosa. Debido a la gran diversidad en las metodologías utilizadas en estos estudios, los metaanálisis que se han realizado para esclarecer esta asociación, no han podido corroborar este efecto debido a que sólo se han podido incluir ensayos clínicos que han tenido como variables de interés glucosa en ayuno, insulina en ayuno, HOMA-IR o HbA1c; es decir, hasta el momento no ha sido posible realizar un análisis agrupado en el desenlace de la sensibilidad a la insulina (112,113). No obstante, es importante recalcar que la finalidad de este estudio fue ir más allá de la evaluación de los cambios en la sensibilidad a la insulina con el consumo de sucralosa mediante un CEH, agregando la exploración de los posibles mecanismos por los cuales la sucralosa pudiera generar este efecto.

Por ejemplo, respecto al desenlace secundario de la microbiota intestinal, la reducción en la biodiversidad bacteriana que se encontró en el análisis de alfa-diversidad con el índice de Shannon, también se ha reportado en otros estudios en animales posterior al consumo de sucralosa (88,90). Esto impacta negativamente en la salud porque sólo una pequeña proporción de los carbohidratos complejos será utilizada, habrá una menor producción de AGCC y limitará todas las demás funciones benéficas de la microbiota intestinal como la inmunidad y la producción de ciertas vitaminas (114). El aumento que se observó en nuestra investigación de la abundancia relativa de diferentes especies del género *Bacteroides* generado por el consumo de sucralosa también se ha observado previamente en un estudio en ratones que reportó un incremento significativo de 3 especies del género *Bacteroides* (*fragilis*, *uniformis* y *caccae*) posterior al consumo de este ENN, muy similar a las especies que se incrementaron en el presente estudio (*fragilis*, *uniformis* y *plebeius*) (88). Esto es muy relevante debido a que estas, y otras bacterias Gram-negativas, expresan en su membrana celular externa el LPS, lo cual

explica el aumento tan significativo que se observó en las concentraciones séricas de LPS de todos los participantes del grupo sucralosa (115). Este hallazgo concuerda con lo reportado en dos estudios en modelos animales, en donde en uno de ellos, se encontró un incremento en la concentración de LPS después del consumo de sucralosa durante 4 meses en ratones, siendo este efecto muy similar a lo que se observó en este experimento con el consumo de edulcorantes calóricos como la sacarosa y la fructosa (88). Aunado a esto, en el otro estudio realizado en animales por Bian y col., se observó que, después del consumo de sucralosa durante 8 semanas en ratones macho, se incrementaba significativamente la expresión de diferentes proteínas y enzimas que regulan la biosíntesis de LPS (24).

Por otro lado, en nuestro estudio se observó que, el consumo de sucralosa reduce significativamente la abundancia relativa de *Ruminococcus bromii* y *Faecalibacterium prausnitzii*, siendo la primera de estas, una especie clave para la fermentación de almidones resistentes en el colon y, la segunda de estas, una bacteria que se ha asociado con efectos antiinflamatorios y con mejorías en la sensibilidad a la insulina y el control glucémico en pacientes con diabetes (116–118). Todos estos cambios en la composición de la microbiota intestinal podrían asociarse a una menor tolerancia a la glucosa, puesto que el LPS es capaz de generar un estado de endotoxemia a nivel sistémico e incrementar la producción de citocinas proinflamatorias (119).

En nuestro estudio, no se detectaron cambios significativos en IL-6 y TNF- $\alpha$ , sin embargo, se ha demostrado en distintos experimentos en modelos animales que la sucralosa es capaz de aumentar las concentraciones de TNF- $\alpha$ , incrementar la expresión del factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), así como generar una disminución de las concentraciones de factores antiinflamatorios como la IL-10 y la inmunoglobulina A (IgA) secretora; reportándose en estos estudios una menor fosforilación del IRS-1 y, por lo tanto, en una menor expresión del GLUT4 (88,120). En el estudio previamente mencionado de Bian y col., tampoco encontraron un cambio significativo de las concentraciones de IL-6 y TNF- $\alpha$ , pero sí reportaron un incremento en la presencia de otros metabolitos como la iNOS y la MMP-2, que se

asocian a la expresión de genes proinflamatorios y con generar daño hepático inflamatorio (24). El único marcador de inflamación en nuestro estudio que mostró un incremento significativo en el grupo sucralosa fue la PCR, indicando una posible reacción de fase aguda. La exploración de los cambios en estos factores proinflamatorios, provocados por el consumo de la sucralosa y a través de la composición de la microbiota intestinal, se fundamenta en que un estado inflamatorio de bajo grado puede alterar la vía de señalización de la insulina inhibiendo la PI3K y generando resistencia a la insulina, tal y como se observó clínicamente en este estudio (27).

Otras modificaciones en la composición de la microbiota intestinal que se han reportado en la literatura por el consumo de la sucralosa en estudios animales son una disminución en la abundancia de géneros de bacterias probóticas como *Lachnoclostridium* y *Lachnospiraceae*, así como un incremento del género *Allobaculum* (que ha mostrado una correlación positiva con la presencia de diabetes) y de otros potenciales patógenos como *Tenacibaculum*, *Ruegeria* y *Staphylococcus* (90). En un ensayo clínico reciente, se reportó que el consumo de sucralosa por 10 semanas generaba un aumento de 3 veces la abundancia relativa de *Blautia coccoides* y una reducción de 0.66 veces la abundancia de la bacteria probótica *Lactobacillus acidophilus* (91). Recientemente, un ensayo clínico realizado por Suez y col. demostró que el consumo del 34% de la IDA de sucralosa durante 14 días en 20 sujetos sanos generaba significativamente mayor iAUC de glucosa en comparación con el grupo control. Aunado a esto, se realizaron trasplantes fecales de los 4 participantes que mostraron la mayor respuesta glucémica al consumo de sucralosa a ratones y se observó mayor tAUC en los animales al día 6 del trasplante, proponiendo nuevamente, los cambios en la microbiota intestinal como mecanismo fisiopatológico para las alteraciones en la tolerancia a la glucosa (84).

Esta interacción de la sucralosa con la microbiota intestinal se ha relacionado a otros desenlaces distintos al metabolismo de la glucosa. Por ejemplo, en un estudio en realizado en ratones hembra se observó que el consumo de sucralosa

durante la gestación y la lactancia, a diferencia del grupo control, generaba que los hijos al llegar a la etapa adulta y al ser inducidos a una dieta alta en grasa, mostraran una barrera intestinal alterada, inflamación de bajo grado a nivel intestinal, cambios en la composición y diversidad de la microbiota intestinal (reduciendo bacterias productoras de butirato como *Clostridium butyricum*) y alteraciones en el metabolismo y síntesis de ácidos grasos, exacerbando la presencia de esteatosis hepática (121). Otro estudio reciente en ratones hembra que consumieron la IDA de sucralosa establecida por la FDA (5 mg/kg/día) durante 11 semanas, demostró que el consumo de este ENN aumentaba la abundancia de los géneros *Bacteroides* y *Clostridium*. Estas bacterias son productoras de ácido desoxicólico (DCA), por lo que no solamente se observó mayor presencia de DCA en las heces, sino que también se generó acumulación de DCA en suero e hígado. El DCA es uno de los principales antagonistas endógenos del receptor X farnesoide, que se encarga de suprimir la colesterol 7 alfa-hidroxilasa, enzima que promueve síntesis de ácidos biliares a partir del colesterol. Por lo tanto, se encontró que el consumo de sucralosa inducía esteatosis hepática (122). Estos hallazgos son significativos para nuestra investigación porque motivan a la exploración de nuevas vías fisiopatológicas en futuros estudios, ya que es bien conocido que el hígado es uno de los órganos más importantes para la homeostasis de la glucosa (31).

Otro mecanismo que se ha propuesto por el cual la sucralosa podría inducir alteraciones metabólicas a través de los cambios en la composición de la microbiota intestinal es que ciertas bacterias, principalmente de los phylums *Firmicutes* y *Proteobacteria*, son capaces de metabolizar colina y L-carnitina de la dieta (presentes en carnes rojas, huevo, pescado, entre otros alimentos) y producir trimetilamina (TMA) (123). La TMA producida por la microbiota intestinal llega hasta el hígado para ser convertida enzimáticamente a N-óxido de trimetilamina (TMAO), metabolito que se encuentra elevado en pacientes con diabetes e interviene en la patogénesis de la aterosclerosis y complicaciones cardiovasculares a través de la inducción de disfunción endotelial, inflamación vascular y estrés oxidativo (124,125). De igual forma, se ha reportado en la literatura que ciertas bacterias Gram-negativas como *Prevotella copri* o *Bacteroides vulgatus* aumentan la producción de

aminoácidos de cadena ramificada (BCAA) (120). El tejido adiposo blanco juega un papel importante en la homeostasis de los BCAA debido a su alta capacidad de inducir su catabolismo, sin embargo, la hipertrofia de adipocitos genera alteraciones en la ruta enzimática que permite la utilización de los BCAA. La acumulación de BCAA se ha relacionado con la presencia de resistencia a la insulina, hiperinsulinemia y síndrome metabólico; ya que pueden incrementar la actividad de la proteína diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR), que favorece la hiperfosforilación de la serina/treonina quinasa en el IRS-1, acelerando su degradación e inhibiendo la vía PI3K (126). Se ha reportado que los pacientes con DM2 presentan un incremento en la abundancia de *Prevotella copri*, *Bacteroides plebeius* y *Bacteroides eggerthii*, lo que podría estar relacionado con resistencia a la insulina y descontrol glucémico (108,127). En nuestro estudio, se observó un incremento significativo ( $p=0.01$ ) de la bacteria Gramnegativa *Prevotella stercorea* y, a pesar de que el género *Prevotella* se ha asociado con efectos benéficos por su contribución a la degradación de polisacáridos, también se ha relacionado en estudios recientes con enfermedades inflamatorias como periodontitis, artritis reumatoide, síndrome metabólico, enfermedad inflamatoria intestinal; al igual que se le ha correlacionado positivamente con obesidad e hígado graso (128).

Algo que se ha discutido en el ámbito científico es que los ENN podrían tener un respuesta en forma de campana en cuanto a la disbiosis que generan en la microbiota intestinal, es decir, que con muy poca cantidad no se notaría el efecto y con mucha cantidad se empezaría a inhibir el daño por la tan significativa reducción de las bacterias intestinales (menos degradación de la capa mucosa por menos glucosidasas bacterianas, menos LPS que pase a la circulación sistémica, menos inflamación de bajo grado, etc.). Los efectos más fuertes se verían con dosis por debajo de la IDA, es decir, con dosis de consumo habitual en la población como se ha demostrado en los ensayos clínicos que han medido el impacto de la sucralosa en la sensibilidad a la insulina (129). Es importante mencionar que no es posible extrapolar con veracidad a los humanos, los efectos del consumo de sucralosa en la microbiota intestinal que se han reportado en estudios con animales, ya que pueden interferir factores como el utilizar un número reducido de animales o

simplemente que existen diferencias entre humanos y ratones en la fisiología gastrointestinal, la composición de la microbiota, la práctica de la coprofagia y hasta las condiciones de vivienda y alimentación (130). Además, es esencial evaluar el estado basal metabólico y de la composición bacteriana para analizar las consecuencias del consumo de ENN en la microbiota intestinal. En humanos, la dosis, duración de las intervenciones y el número de sujetos incluidos en los estudios, son factores clave para interpretar específicamente los resultados de este desenlace (131).

La disminución que se observó en nuestro estudio mediante el uso del CEH en la sensibilidad a la insulina posterior al consumo de sucralosa, también se vio reflejada en las pruebas de tolerancia a una comida mixta, ya que el grupo sucralosa mostró un aumento del 27.2% en el tAUC ( $p=0.01$ ) y del 87.6% en el iAUC ( $p=0.02$ ) de las concentraciones postprandiales de glucosa. De igual manera, se observó en el grupo sucralosa un incremento del 31.5% en el tAUC ( $p=0.02$ ) y del 28.9% en el iAUC ( $p=0.03$ ) de las concentraciones postprandiales de insulina. Este hallazgo se ha reportado en diversos ensayos clínicos que han demostrado un incremento en la glucemia e insulinemia con el consumo de sucralosa tanto de forma aguda como crónica (45,67,69,70,84,91). El impacto que podría tener de manera aguda (en una sola exposición) el consumo de distintos ENN en la glucemia e insulinemia postprandial e inclusive el apetito, se ha evaluado tanto con la CTOG como con la ingestión de alimentos, no obstante, hasta nuestro conocimiento, el efecto de manera crónica (por una exposición a los ENN por días o semanas) solamente se ha medido durante CTOG (65). Por lo tanto, nuestra investigación aporta evidencia de que, con el consumo de una comida mixta estandarizada, como sucede en la vida real, también se observan los mismos efectos de la sucralosa en el metabolismo de los hidratos de carbono.

Esto resulta relevante debido a que se ha propuesto que el impacto que tienen ciertos ENN como la sucralosa, la sacarina o el acesulfame-K en la glucemia e insulinemia postprandial, es derivado de la combinación del ENN con los hidratos de carbono a nivel intestinal. El mecanismo se explica al momento en que la

sucralosa ha demostrado en modelos animales y estudios *in vitro* que es capaz de incrementar la expresión de transportadores de glucosa como el SGLT1 y el GLUT2 en el enterocito a través de su interacción con receptores del sabor dulce (T1R2, T1R3 y α-gustducina), generando así, un mayor transporte activo y pasivo de glucosa a nivel intestinal, traduciéndose en una mayor tasa de absorción (16,17,132). De hecho, Dalenberg y col. reportaron en su ensayo clínico publicado en el 2020 que el consumo de bebidas que contenían 60 mg de sucralosa con 30 g de maltodextrinas generaba mayor iAUC de insulina a las 2 semanas, efecto que no se observó en los grupos que consumieron las bebidas que sólo contenían sucralosa o sólo contenían maltodextrinas (69).

Por lo tanto, debido a la forma en que fue implementada nuestra intervención (consumo de cápsulas con sucralosa antes de las comidas principales durante 30 días), fue posible evaluar el impacto de la combinación de la sucralosa con los alimentos, y esto se reflejó, tanto en los CEH como en las pruebas de tolerancia a una comida mixta, observándose una menor tolerancia a la glucosa. Incluso, se ha reportado que las personas con sobrepeso que dejan de consumir bebidas con ENN durante 12 semanas disminuyen significativamente su peso corporal, masa grasa, resistencia a la insulina, glucosa en ayuno, insulina en ayuno, triglicéridos, colesterol total y colesterol LDL, en comparación con los sujetos que continuaban consumiendo las bebidas con ENN (133).

Aunado a los cambios en las concentraciones postprandiales de glucosa e insulina posterior a un desayuno estandarizado, se calculó el índice de Matsuda para evaluar la sensibilidad a la insulina durante las pruebas de tolerancia a una comida mixta, encontrándose que la sucralosa generó una reducción neta del 27.9% en este parámetro al comparar los cambios que se observaron en el grupo sucralosa en comparación con el grupo placebo (-32.8% vs -4.9%; p=0.01). Otros dos ensayos clínicos han reportado una disminución significativa de este índice durante CTOG posterior el consumo de 48 y 200 mg/día de sucralosa durante 10 y 4 semanas, respectivamente (45,70).

Respecto al GLP-1, sólo se encontró un aumento del 45.5% del iAUC en el grupo sucralosa ( $p=0.04$ ), sin ser estadísticamente diferente el porcentaje de cambio entre grupos ( $p=0.21$ ). A pesar de que se ha reportado en distintos ensayos clínicos de exposición aguda y crónica que el consumo de sucralosa es capaz de generar mayores concentraciones de GLP-1 durante una CTOG (desde un aumento del 29% hasta el 43% en el tAUC), específicamente en personas sanas y no en personas que viven con diabetes (44,45,47,66), no se considera un hallazgo consistente debido a que no se ha podido replicar en todos los estudios que han evaluado este desenlace (67,71,83,84). En nuestro caso, probablemente faltó tamaño de muestra para poder detectar diferencias significativas entre los grupos e inclusive en el tAUC que mostró tendencia al aumento en el grupo sucralosa (31.3%;  $p=0.09$ ), sin embargo, este fue un objetivo secundario de la investigación. El aumento postprandial de GLP-1 también es una vía por la cual la sucralosa podría generar cambios en las concentraciones de insulina posterior a su consumo, ya que se ha evidenciado en estudios en animales e *in vitro* que, a través de la interacción con receptores del sabor dulce en las células enteroendócrinas L y K, la sucralosa incrementa la liberación de GLP-1 y GIP (13,20). No obstante, en los ensayos clínicos que han evaluado esta asociación sólo han reportado efectos de la sucralosa específicamente en el GLP-1.

En nuestro estudio no se encontraron cambios significativos en las concentraciones postprandiales de hormonas reguladoras del apetito como la ghrelina y el PYY, sin embargo, esto concuerda con los resultados de los ensayos clínicos que han evaluado los efectos de distintos ENN en las concentraciones de estas hormonas. Estos estudios han utilizado metodologías variadas, principalmente de exposición aguda y evaluando el impacto de la ingestión de sucralosa en las concentraciones de ghrelina o PYY durante un desayuno *ad libitum*, una CTOG o simplemente a través de una infusión intragástrica, pero sin encontrarse efectos significativos en ninguno de estos casos (66,77,78). El único estudio que ha evaluado el efecto de la sucralosa en hormonas reguladoras del apetito ante una exposición más prolongada (14 días) fue el ensayo clínico que realizó previamente nuestro grupo de investigación en sujetos sanos que

consumieron el 15% de la IDA de sucralosa por día. En este estudio, se midieron las concentraciones de ghrelina, PYY y leptina pero no se encontraron diferencias en ninguno de los grupos posterior a la intervención, no obstante, sólo fue posible evaluar estos cambios con las concentraciones de las hormonas en ayuno debido a que las pruebas que se realizaron eran de glucosa intravenosa y no fue posible medir las concentraciones en el estado postprandial (71).

Comúnmente, se reconoce en la literatura que el consumo de sucralosa no genera síntomas o efectos secundarios (134,135). A pesar de ello, en este estudio se encontró que una proporción significativa de participantes reportó presentar distensión abdominal asociada al consumo de las cápsulas que contenían sucralosa durante la intervención (36.4% en grupo sucralosa vs 0.0% en grupo placebo; p=0.03). En una revisión sistemática publicada en el 2016, se menciona que sólo existe un estudio realizado en conejos en donde se encontró que una dosis muy alta de sucralosa (700-1,000 mg/kg/día) generó graves alteraciones gastrointestinales en estos animales y, a dosis más bajas, los conejos presentaron distrés gastrointestinal (136). En un ensayo clínico aleatorizado paralelo que se publicó recientemente, analizaron el efecto de la implementación de dos dietas (una libre de ENN y otra con un consumo de 50-100 mg/día de ENN) en la percepción de diferentes síntomas gastrointestinales. Se encontró que la dieta con ENN aumentó la presencia de diarrea, malestar postprandial, estreñimiento y ardor o dolor retroesternal. Por el contrario, la dieta sin ENN disminuyó la presencia de dolor abdominal, molestias postprandiales, ardor o dolor retroesternal, saciedad precoz y dolor epigástrico (137). De tal forma que, pareciera que puede existir una asociación entre el consumo de ENN y diversos síntomas gastrointestinales, sin embargo, en el ensayo clínico mencionado de las dietas con o sin ENN, no se evaluó en específico el efecto de la sucralosa, pero pudiera estar relacionado a los cambios en la microbiota intestinal que se han descrito para varios de estos aditivos alimentarios.

La presencia de cefalea mostró una tendencia a ser más frecuente durante la intervención con el consumo de las cápsulas que contenían sucralosa (27.3% en

grupo sucralosa vs 0.0% en grupo placebo; p=0.09). Hasta el momento sólo existen tres reportes de caso en donde se han asociado episodios repetitivos de cefalea con el consumo previo de sucralosa (138–140). Los tres casos incluyen a una mujer de 30 años, otra mujer de 42 años y un hombre de 47 años. El consumo de sucralosa podía provenir de sobres de sustituto de azúcar o de bebidas con el ENN, ingiriéndose desde 15 minutos hasta 3 horas antes del episodio de cefalea. En una de estas publicaciones en específico, el 90% de los ataques de migraña de la paciente eran precipitados por el consumo de sucralosa, por lo que los autores decidieron realizar un pequeño experimento con ella, el cual consistió en que bebiera durante 5 días consecutivos un jugo que podía estar endulzado con azúcar de mesa o sucralosa. La participante no presentó cefalea en ninguna de las tres ocasiones que consumió el jugo con azúcar de mesa (0/3) y, por el contrario, presentó cefalea en las dos ocasiones que consumió el jugo con sucralosa (2/2) (140). Incluso, existe una revisión narrativa sobre la relación de la dieta y la cefalea, en donde se enlista a la sucralosa como un ingrediente que presenta una posible asociación con este síntoma (141). Sin embargo, la evidencia presentada en estos reportes de caso no indica causalidad y, debido a que no se ha descrito ningún mecanismo fisiopatológico que relacione estas dos variables, no es posible considerar que evidentemente la sucralosa produce este efecto, por lo que habrá que evaluarse en estudios posteriores.

Finalmente, se encontraron ciertos cambios en el perfil de lípidos en la evaluación que se realizó un mes después de haber finalizado las intervenciones. Por ejemplo, en el grupo sucralosa se aumentó significativamente el colesterol total, pasando de 172.3 mg/dL a 183.8 mg/dL en promedio (p=0.02). En cuanto al colesterol LDL, también mostró un incremento casi significativo, pasando de 100.8 mg/dL a 110.6 mg/dL en promedio (p=0.05), aunque el porcentaje de cambio entre grupos sí fue estadísticamente diferente (7.7% en grupo sucralosa vs -3.1% en grupo placebo; p=0.03). Recientemente la OMS publicó un metaanálisis que analiza los efectos a la salud derivados del uso de ENN y, dentro de los distintos desenlaces evaluados, se incluyó al perfil de lípidos. En el análisis agrupado de 4 ensayos clínicos aleatorizados se observó que el consumo de ENN genera un pequeño

incremento de la relación de colesterol total/colesterol HDL. No se reportaron efectos significativos del consumo de ENN en el colesterol total de forma aislada o en el colesterol LDL, colesterol HDL y triglicéridos (142). En un ensayo clínico aleatorizado, paralelo y triple ciego que se publicó en el 2021 se analizó el efecto de consumir diariamente una bebida de 330 ml durante 60 días que podía estar endulzada con sacarosa (7.5 g/100 ml), estevia (4 mg/100ml) o sucralosa (4 mg/100 ml). El estudio incluyó a 138 sujetos con sobrepeso que fueron aleatorizados a uno de los 3 grupos y se evaluó el efecto de los endulzantes en el perfil de lípidos y el estado antioxidante e inflamatorio. El consumo de la bebida con sucralosa mostró un aumento significativo en las concentraciones de colesterol total y colesterol HDL ( $p<0.05$ ), al igual que en las concentraciones de homocisteína ( $p<0.01$ ) (143). En consecuencia, se considera que la evidencia que existe en relación a los efectos del consumo de sucralosa en los distintos componentes del perfil de lípidos es limitada y no puede establecerse una asociación certera, por lo que necesita ser evaluada a profundidad con metodologías más rigurosas.

Es importante mencionar las limitaciones del presente estudio. Una de ellas es el haber tenido un tamaño de muestra reducido para evaluar los efectos de la sucralosa en los desenlaces secundarios de esta investigación. Se encontraron cambios significativos en nuestra principal variable de interés, que era la sensibilidad a la insulina estimada mediante el CEH, sin embargo, algunas de las variables incluidas en los objetivos secundarios, sólo mostraron una tendencia a ser diferentes posterior a la intervención, principalmente las concentraciones de GLP-1, pero también algunos marcadores inflamatorios, el perfil de lípidos y los síntomas asociados al consumo de sucralosa. De igual forma, como ya se mencionó anteriormente, existen diferentes metabolitos asociados a la microbiota intestinal que podrían estar relacionados con los cambios que se observaron en el metabolismo de la glucosa en este estudio, por lo que esto limita a no tener un completo entendimiento de los mecanismos fisiopatológicos que pudieran estar involucrados. Por otra parte, pese a que se incrementó el tiempo de exposición al consumo de sucralosa en comparación con nuestro ensayo clínico previo, probablemente se requiere de un mayor tiempo de seguimiento debido a que ciertos

parámetros tardan más tiempo en modificarse. La cantidad de sucralosa que consumieron los participantes durante la intervención correspondía a una dosis mayor a la utilizada en la mayoría de los ensayos clínicos que han evaluado los efectos de la sucralosa en los distintos desenlaces de esta investigación, por lo que creemos que no se requiere aumentar la dosis debido a que se han encontrado efectos significativos con una menor cantidad y, por el contrario, al usar una dosis mayor, se excedería a la cantidad de sucralosa que habitualmente consume la población general.

En contraste, también resulta pertinente recalcar las fortalezas de esta investigación, como lo son el hecho de que ambos grupos fueron homogéneos y no mostraron diferencias en el estado basal en distintas variables sociodemográficas, clínicas, antropométricas, metabólicas y dietéticas. La población incluida en este estudio resulta ideal para evaluar los efectos de los ENN, puesto que los participantes de la investigación no presentaban alteraciones metabólicas que pudieran predisponerlos a los hallazgos que se detectaron y, además, que son sujetos que habitualmente no están expuestos al consumo de ENN y no han podido generar mecanismos que compensen los efectos deletérios que se asocian a estos aditivos alimentarios. Las técnicas utilizadas para medir nuestras diferentes variables de interés son novedosas en este tema, de alta calidad metodológica y confiables. Además, debido a la alta adherencia que se observó en ambos grupos del estudio y a que las maniobras periféricas que se implementaron como control durante el periodo de intervención no mostraron cambios significativos (dieta, actividad física y peso corporal), esto permite eliminar el impacto de probables factores de confusión que podrían modificar el efecto que se observó en ambas intervenciones.

## **CONCLUSIONES**

Con base en la evidencia generada en este estudio, se puede concluir que, la ingestión de sucralosa durante 30 días a una dosis que se consideraría dentro de lo habitual en la población consumidora de ENN, produce distintos efectos en la salud metabólica de sujetos jóvenes aparentemente sanos, como una disminución de la sensibilidad a la insulina, menor tolerancia a la glucosa y alteraciones en la composición de la microbiota intestinal que podrían asociarse a un estado inflamatorio de bajo grado.

Actualmente, las guías internacionales de organizaciones como la ADA o la OMS que establecen recomendaciones sobre el uso de ENN, ya no se enfocan en recomendar de manera indiscriminada el consumo de este grupo de aditivos alimentarios. Por ejemplo, la ADA desde el 2019 especifica que el uso de ENN puede servir sólo como herramienta transitoria para disminuir el consumo de azúcares, pero que la meta de los profesionales de la salud debe ser lograr una disminución del consumo de edulcorantes tanto calóricos como no calóricos y promover el disfrutar del sabor natural de los alimentos y bebidas, disminuyendo así, la preferencia por el sabor dulce (144). Por otro lado, la OMS publicó recientemente el bosquejo de sus guías que se publicarán sobre el uso de ENN, estableciendo como su recomendación general que no deben utilizarse como un medio para lograr el control del peso o reducir el riesgo de enfermedades no transmisibles (145). Esto es un indicio de que la evidencia científica que sustenta que los ENN no son totalmente inocuos es creciente y cada vez más contundente al punto de ser considerada para cambiar las recomendaciones sobre su uso por organizaciones mundiales.

Este hecho es trascendental para la ciencia de la nutriología, ya que cambia totalmente el enfoque se ha utilizado durante muchos años en torno a la recomendación del consumo de ENN, puesto que es una herramienta que los nutriólogos hemos usado en el tratamiento nutricional de pacientes con diabetes y prediabetes, obesidad, síndrome metabólico, dislipidemias, caries y otras

patologías. Sin embargo, es importante reconocer que hoy en día los ENN no deben considerarse como sustancias inertes.

Todavía hacen falta muchos esfuerzos y estudios que nos permitan tener un entendimiento completo de cuál es el impacto de los cambios generados en la salud por el consumo de sucralosa a largo plazo, explorar nuevas vías fisiopatológicas y diferenciar cuáles son los efectos específicos de cada una de las sustancias que se incluyen en este grupo de aditivos alimentarios. No obstante, los resultados de este ensayo clínico definitivamente aportan evidencia científica valiosa y de alta calidad que complementan el conocimiento que se tiene actualmente respecto a los efectos de los ENN en la salud.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Lohner S, Toews I, Meerpohl JJ. Health outcomes of non-nutritive sweeteners: analysis of the research landscape. *Nutr J.* 2017;16(1):55.
2. AlDeeb OAA, Mahgoub H, Foda NH. Sucratose. *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol.* 2013 Jan;38:423–62.
3. Romo-Romo A, Almeda-Valdes P, Serralde-Zúñiga AE. Edulcorantes y enfermedades crónicas degenerativas. *Cuad Nutr.* 2018;41(3):91–102.
4. US Food and Drug Administration. Food Additives & Ingredients - Additional Information about High-Intensity Sweeteners Permitted for use in Food in the United States [Internet]. Center for Food Safety and Applied Nutrition; [cited 2018 May 13]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/ucm397725.htm>
5. Schiffman SS, Gatlin CA. Sweeteners: state of knowledge review. *Neurosci Biobehav Rev.* 1993;17(3):313–45.
6. World Health Organization. Sucratose [Internet]. Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). [cited 2020 Jan 13]. Available from: <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=2340>
7. Magnuson BA, Carakostas MC, Moore NH, Poulos SP, Renwick AG. Biological fate of low-calorie sweeteners. *Nutr Rev.* 2016;74(11):670–89.
8. Soffritti M, Padovani M, Tibaldi E, Falcioni L, Manservisi F, Lauriola M, et al. Sucratose administered in feed, beginning prenatally through lifespan, induces hematopoietic neoplasias in male swiss mice. *Int J Occup Environ Health.* 2016;22(1):7–17.
9. Aguilar F, Crebelli R, Domenico A Di, Dusemund B, Frutos MJ, Galtier P, et al. Statement on the validity of the conclusions of a mouse carcinogenicity study on sucratose ( E 955 ) performed by the Ramazzini Institute. *EFSA J.*

2017;15(5):4784.

10. Tucker RM, Tan SY. Do non-nutritive sweeteners influence acute glucose homeostasis in humans? A systematic review. *Physiol Behav*. 2017 Dec 1;182:17-26.
11. Romo-Romo A, Aguilar-Salinas CA, Gómez-Díaz RA, Brito-Córdova GX, Gómez-Velasco D V, López-Rocha MJ, et al. Non-Nutritive Sweeteners: Evidence on their Association with Metabolic Diseases and Potential Effects on Glucose Metabolism and Appetite. *Rev Invest Clin*. 2017;69(3):129–38.
12. Risdon S, Battault S, Romo-Romo A, Roustit M, Briand L, Meyer G, et al. Sucratose and Cardiometabolic Health: Current Understanding from Receptors to Clinical Investigations. *Adv Nutr*. 2021;12(4):1500–13.
13. Calvo SS-C, Egan JM. The endocrinology of taste receptors. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11(4):213–27.
14. Nakagawa Y, Nagasawa M, Yamada S, Hara A, Mogami H, Nikolaev VO, et al. Sweet taste receptor expressed in pancreatic beta-cells activates the calcium and cyclic AMP signaling systems and stimulates insulin secretion. *PLoS One*. 2009;4(4):e5106.
15. Rother KI, Conway EM, Sylvetsky AC. How Non-nutritive Sweeteners Influence Hormones and Health. *Trends Endocrinol Metab*. 2018;29(7):455–67.
16. Margolskee RF, Dyer J, Kokrashvili Z, Salmon KSH, Illegems E, Daly K, et al. T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na<sup>+</sup>-glucose cotransporter 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(38):15075–80.
17. Mace OJ, Affleck J, Patel N, Kellett GL. Sweet taste receptors in rat small intestine stimulate glucose absorption through apical GLUT2. *J Physiol*. 2007;582(Pt 1):379–92.
18. Shirazi-Beechey SP, Daly K, Al-Rammahi M, Moran AW, Bravo D. Role of nutrient-sensing taste 1 receptor (T1R) family members in gastrointestinal

- chemosensing. *Br J Nutr.* 2014;111 Suppl(S1):S8-15.
19. Daly K, Al-Rammahi M, Arora DK, Moran AW, Proudman CJ, Ninomiya Y, et al. Expression of sweet receptor components in equine small intestine: relevance to intestinal glucose transport. *Am J Physiol Integr Comp Physiol.* 2012;303(2):R199–208.
  20. Jang H-J, Kokrashvili Z, Theodorakis MJ, Carlson OD, Kim B-J, Zhou J, et al. Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(38):15069–74.
  21. Suez J, Korem T, Zeevi D, Zilberman-Schapira G, Thaiss CA, Maza O, et al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature.* 2014;514(7521):181–6.
  22. Katashima CK, Silva VRR, Lenhare L, Marin RM, Carvalheira JBC. iNOS promotes hypothalamic insulin resistance associated with deregulation of energy balance and obesity in rodents. *Sci Rep.* 2017;7(1):9265.
  23. Abou-Donia MB, El-Masry EM, Abdel-Rahman AA, McLendon RE, Schiffman SS. Splenda alters gut microflora and increases intestinal p-glycoprotein and cytochrome p-450 in male rats. *J Toxicol Environ Health A.* 2008;71(21):1415–29.
  24. Bian X, Chi L, Gao B, Tu P, Ru H, Lu K. Gut Microbiome Response to Sucralose and Its Potential Role in Inducing Liver Inflammation in Mice. *Front Physiol.* 2017;8:487.
  25. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, et al. Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):6275.
  26. Ascaso JF, Pardo S, Real JT, Lorente RI, Priego A, Carmena R. Diagnosing insulin resistance by simple quantitative methods in subjects with normal glucose metabolism. *Diabetes Care.* 2003 Dec;26(12):3320–5.
  27. Kang S, Tsai LT-Y, Rosen ED. Nuclear Mechanisms of Insulin Resistance.

Trends Cell Biol. 2016;26(5):341–51.

28. Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance *in vivo*: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008 Jan;294(1):E15-26.
29. Boucher J, Kleinridders A, Kahn CR. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6(1):a009191–a009191.
30. Gutiérrez-Rodelo C, Roura-Guiberna A, Olivares-Reyes JA. [Molecular Mechanisms of Insulin Resistance: An Update]. *Gac Med Mex*. 153(2):214–28.
31. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell*. 2012;148(5):852–71.
32. Roden M. Clinical diabetes research: methods and techniques. Chichester: John Wiley & Sons; 2007. 408 p.
33. Bergman RN, Prager R, Volund A, Olefsky JM. Equivalence of the insulin sensitivity index in man derived by the minimal model method and the euglycemic glucose clamp. *J Clin Invest*. 1987 Mar;79(3):790–800.
34. Ferrannini E, Natali A, Bell P, Cavallo-Perin P, Lalic N, Mingrone G. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *J Clin Invest*. 1997 Sep 1;100(5):1166–73.
35. Patarrão RS, Lautt WW, Macedo MP. Assessment of methods and indexes of insulin sensitivity. *Rev Port Endocrinol Diabetes Metab*. 2014;9(1):65–73.
36. Kim IY, Suh SH, Lee IK, Wolfe RR. Applications of stable, nonradioactive isotope tracers in *in vivo* human metabolic research. *Exp Mol Med*. 2016 Jan 15;48(1):e203.
37. Nerpin E, Risérus U, Ingelsson E, Sundström J, Jobs M, Larsson A, et al. Insulin sensitivity measured with euglycemic clamp is independently

- associated with glomerular filtration rate in a community-based cohort. *Diabetes Care.* 2008 Aug;31(8):1550–5.
38. Almeda-Valdes P, Brito-Córdova GX, Romo-Romo A. Hormonas y neurotransmisores gastrointestinales. In: Méndez-Sánchez N, editor. *Gastroenterología*. 3rd ed. Mexico City: McGraw-Hill; 2018. p. 28–38.
  39. Quintanilla-García C, Zúñiga-Guajardo S. [The incretin effect and type 2 diabetes]. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2010;48(5):509–20.
  40. Subaran SC, Sauder MA, Chai W, Jahn LA, Fowler DE, Aylor KW, et al. GLP-1 at physiological concentrations recruits skeletal and cardiac muscle microvasculature in healthy humans. *Clin Sci (Lond).* 2014;127(3):163–70.
  41. Asmar M. New physiological effects of the incretin hormones GLP-1 and GIP. *Dan Med Bull.* 2011 Mar;58(2):B4248.
  42. Hansotia T, Drucker DJ. GIP and GLP-1 as incretin hormones: lessons from single and double incretin receptor knockout mice. *Regul Pept.* 2005 Jun 15;128(2):125–34.
  43. Bak MJ, Wewer Albrechtsen NJ, Pedersen J, Knop FK, Vilsbøll T, Jørgensen NB, et al. Specificity and sensitivity of commercially available assays for glucagon-like peptide-1 (GLP-1): implications for GLP-1 measurements in clinical studies. *Diabetes Obes Metab.* 2014 Nov;16(11):1155–64.
  44. 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.
  45. Lertrit A, Srimachai S, Saetung S, Chanprasertyothin S, Chailurkit L-O, Areevut C, et al. Effects of sucralose on insulin and glucagon-like peptide-1 secretion in healthy subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition.* 2018;55–56:125–30.
  46. Romo-Romo A, Aguilar-Salinas CA, Brito-Córdova GX, Gómez-Díaz RA,

- Almeda-Valdes P. Sucralose decreases insulin sensitivity in healthy subjects: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2018;108(3):485–91.
47. Sylvetsky AC, Brown RJ, Blau JE, Walter M, Rother KI. Hormonal responses to non-nutritive sweeteners in water and diet soda. *Nutr Metab (Lond).* 2016;13(1):71.
  48. Icaza-Chávez ME. [Gut microbiota in health and disease]. *Rev Gastroenterol Mex.* 2013;78(4):240–8.
  49. Mai V, Draganov P V. Recent advances and remaining gaps in our knowledge of associations between gut microbiota and human health. *World J Gastroenterol.* 2009;15(1):81–5.
  50. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J.* 2017;474(11):1823–36.
  51. Zhu B, Wang X, Li L. Human gut microbiome: the second genome of human body. *Protein Cell.* 2010;1(8):718–25.
  52. Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiano GAD, Gasbarrini A, et al. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms.* 2019;7(1):14.
  53. Rowland I, Gibson G, Heinken A, Scott K, Swann J, Thiele I, et al. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *Eur J Nutr.* 2018;57(1):1–24.
  54. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the human microbiome. *Nutr Rev.* 2012;70 Suppl 1:S38-44.
  55. Valdovinos-Díaz MÁ. [Intestinal microbiota in digestive disorders. Probiotics, prebiotics and symbiotics]. *Rev Gastroenterol Mex.* 2013;78 Suppl 1:25–7.
  56. Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Heal Dis.* 2015;26:26050.

57. Morales P, Brignardello J, Gotteland M. [The association of intestinal microbiota with obesity]. *Rev Med Chil.* 2010;138(8):1020–7.
58. Robles-Alonso V, Guarner F. [Progress in the knowledge of the intestinal human microbiota]. *Nutr Hosp.* 28(3):553–7.
59. Greenhalgh K, Meyer KM, Aagaard KM, Wilmes P. The human gut microbiome in health: establishment and resilience of microbiota over a lifetime. *Environ Microbiol.* 2016;18(7):2103–16.
60. Conlon M, Bird A. The Impact of Diet and Lifestyle on Gut Microbiota and Human Health. *Nutrients.* 2014;7(1):17–44.
61. Jumpertz R, Le DS, Turnbaugh PJ, Trinidad C, Bogardus C, Gordon JI, et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(1):58–65.
62. Maldonado RF, Sá-Correia I, Valvano MA. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection. *FEMS Microbiol Rev.* 2016;40(4):480–93.
63. Raetz CRH, Whitfield C. Lipopolysaccharide Endotoxins. *Annu Rev Biochem.* 2002;71(1):635–700.
64. Wang X, Quinn PJ. Lipopolysaccharide: Biosynthetic pathway and structure modification. *Prog Lipid Res.* 2010;49(2):97–107.
65. Romo-Romo A, Aguilar-Salinas CA, Brito-Córdova GX, Gómez Díaz RA, Vilchis Valentín D, Almeda-Valdes P. Effects of the Non-Nutritive Sweeteners on Glucose Metabolism and Appetite Regulating Hormones: Systematic Review of Observational Prospective Studies and Clinical Trials. *PLoS One.* 2016;11(8):e0161264.
66. Brown RJ, Walter M, Rother KI. Effects of diet soda on gut hormones in youths with diabetes. *Diabetes Care.* 2012;35(5):959–64.
67. 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.
68. Nichol AD, Salame C, Rother KI, Pepino MY. Effects of Sucralose Ingestion versus Sucralose Taste on Metabolic Responses to an Oral Glucose Tolerance Test in Participants with Normal Weight and Obesity: A Randomized Crossover Trial. *Nutrients.* 2019;12(1):29.
  69. Dalenberg JR, Patel BP, Denis R, Veldhuizen MG, Nakamura Y, Vinke PC, et al. Short-Term Consumption of Sucralose with, but Not without, Carbohydrate Impairs Neural and Metabolic Sensitivity to Sugar in Humans. *Cell Metab.* 2020;31(3):493–502.
  70. Bueno-Hernández N, Esquivel-Velázquez M, Alcántara-Suárez R, Gómez-Arauz AY, Espinosa-Flores AJ, De León-Barrera KL, et al. Chronic sucralose consumption induces elevation of serum insulin in young healthy adults: a randomized, double blind, controlled trial. *Nutr J.* 2020;19(1):32.
  71. Romo-Romo A, Aguilar-Salinas CA, López-Carrasco MG, Guillén-Pineda LE, Brito-Córdova GX, Gómez-Díaz RA, et al. Sucralose Consumption over 2 Weeks in Healthy Subjects Does Not Modify Fasting Plasma Concentrations of Appetite-Regulating Hormones: A Randomized Clinical Trial. *J Acad Nutr Diet.* 2020;120(8):1295–304.
  72. Mezitis NH, Maggio CA, Koch P, Quddoos A, Allison DB, Pi-Sunyer FX. Glycemic effect of a single high oral dose of the novel sweetener sucralose in patients with diabetes. *Diabetes Care.* 1996 Sep;19(9):1004–5.
  73. Grotz VL, Henry RR, McGill JB, Prince MJ, Shamoon H, Trout JR, et al. Lack of effect of sucralose on glucose homeostasis in subjects with type 2 diabetes. *J Am Diet Assoc.* 2003 Dec;103(12):1607–12.
  74. Ma J, Bellon M, Wishart JM, Young R, Blackshaw LA, Jones KL, et al. Effect of the artificial sweetener, sucralose, on gastric emptying and incretin hormone release in healthy subjects. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2009 Apr;296(4):G735-9.

75. Ma J, Chang J, Checklin HL, Young RL, Jones KL, Horowitz M, et al. Effect of the artificial sweetener, sucralose, on small intestinal glucose absorption in healthy human subjects. *Br J Nutr.* 2010 Sep;104(6):803–6.
76. Ford HE, Peters V, Martin NM, Sleeth ML, Ghatei MA, Frost GS, et al. Effects of oral ingestion of sucralose on gut hormone response and appetite in healthy normal-weight subjects. *Eur J Clin Nutr.* 2011;65(4):508–13.
77. Brown AW, Bohan Brown MM, Onken KL, Beitz DC. Short-term consumption of sucralose, a nonnutritive sweetener, is similar to water with regard to select markers of hunger signaling and short-term glucose homeostasis in women. *Nutr Res.* 2011;31(12):882–8.
78. Steinert RE, Frey F, Töpfer A, Drewe J, Beglinger C. Effects of carbohydrate sugars and artificial sweeteners on appetite and the secretion of gastrointestinal satiety peptides. *Br J Nutr.* 2011;105(9):1320–8.
79. Wu T, Zhao BR, Bound MJ, Checklin HL, Bellon M, Little TJ, et al. Effects of different sweet preloads on incretin hormone secretion, gastric emptying, and postprandial glycemia in healthy humans. *Am J Clin Nutr.* 2012 Jan;95(1):78–83.
80. Gallagher C, Keogh JB, Pedersen E, Clifton PM. Fructose acute effects on glucose, insulin, and triglyceride after a solid meal compared with sucralose and sucrose in a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr.* 2016 Jun 1;103(6):1453–7.
81. Grotz VL, Pi-Sunyer X, Porte D, Roberts A, Richard Trout J. A 12-week randomized clinical trial investigating the potential for sucralose to affect glucose homeostasis. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2017;88:22–33.
82. Thomson P, Santibañez R, Aguirre C, Galgani JE, Garrido D. Short-term impact of sucralose consumption on the metabolic response and gut microbiome of healthy adults. *Br J Nutr.* 2019;122(8):856–62.
83. Ahmad SY, Friel JK, Mackay DS. The effect of the artificial sweeteners on

- glucose metabolism in healthy adults: a randomized, double-blinded, crossover clinical trial. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2020;45(6):606–12.
84. Suez J, Cohen Y, Valdés-Mas R, Mor U, Dori-Bachash M, Federici S, et al. Personalized microbiome-driven effects of non-nutritive sweeteners on human glucose tolerance. *Cell.* 2022 Sep;185(18):3307-3328.e19.
  85. Uebanso T, Ohnishi A, Kitayama R, Yoshimoto A, Nakahashi M, Shimohata T, et al. Effects of Low-Dose Non-Caloric Sweetener Consumption on Gut Microbiota in Mice. *Nutrients.* 2017;9(6):560.
  86. Wang Q-P, Browman D, Herzog H, Neely GG. Non-nutritive sweeteners possess a bacteriostatic effect and alter gut microbiota in mice. *PLoS One.* 2018;13(7):e0199080.
  87. Ahmad SY, Friel J, Mackay D. The Effects of Non-Nutritive Artificial Sweeteners, Aspartame and Sucralose, on the Gut Microbiome in Healthy Adults: Secondary Outcomes of a Randomized Double-Blinded Crossover Clinical Trial. *Nutrients.* 2020;12(11):3408.
  88. Sánchez-Tapia M, Miller AW, Granados-Portillo O, Tovar AR, Torres N. The development of metabolic endotoxemia is dependent on the type of sweetener and the presence of saturated fat in the diet. *Gut Microbes.* 2020;12(1):1801301.
  89. Rettig S, Tenewitz J, Ahearn G, Coughlin C. Sucralose causes a concentration dependent metabolic inhibition of the gut flora *Bacteroides*, *B. fragilis* and *B. uniformis* not observed in the Firmicutes, *E. faecalis* and *C. sordellii*. *FASEB J.* 2014;28(S1):1118.1.
  90. Zheng Z, Xiao Y, Ma L, Lyu W, Peng H, Wang X, et al. Low Dose of Sucralose Alter Gut Microbiome in Mice. *Front Nutr.* 2022 Feb 25;9:848392.
  91. Méndez-García LA, Bueno-Hernández N, Cid-Soto MA, De León KL, Mendoza-Martínez VM, Espinosa-Flores AJ, et al. Ten-Week Sucralose Consumption Induces Gut Dysbiosis and Altered Glucose and Insulin Levels

- in Healthy Young Adults. *Microorganisms*. 2022 Feb 1;10(2):434.
92. Romo-Romo A, Almeda-Valdés P, Brito-Córdova GX, Gómez-Pérez FJ. [Prevalence of non-nutritive sweeteners consumption in a population of patients with diabetes in Mexico]. *Gac Med Mex*. 2017;153(1):61–74.
  93. 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.
  94. 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.
  95. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2018. *Diabetes Care*. 2018;41(Suppl 1):S1–159.
  96. López-Alvarenga J, Reyes-Díaz S, Castillo-Martínez L, Dávalos-Ibáñez A, González-Barranco J. Reproducibilidad y sensibilidad de un cuestionario de actividad física en población mexicana. *Salud Publica Mex*. 2001;43:306–12.
  97. Tam CS, Xie W, Johnson WD, Cefalu WT, Redman LM, Ravussin E. Defining insulin resistance from hyperinsulinemic-euglycemic clamps. *Diabetes Care*. 2012 Jul;35(7):1605–10.
  98. QIAGEN. QIAamp® Fast DNA Stool Mini Handbook: For fast purification of genomic DNA from stool samples. 2020 Feb.
  99. Real Academia Española. Definición de sexo [Internet]. Diccionario de la Real Academia Española. [cited 2016 Mar 24]. Available from: <http://dle.rae.es/?id=XIApmpe&o=h>
  100. Real Academia Española. Definición de edad [Internet]. Diccionario de la Real Academia Española. [cited 2016 Mar 24]. Available from: <http://dle.rae.es/?id=EN8xffh&o=h>
  101. Secretaría de Salud de México. Norma Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-

2012, Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación. Diario Oficial de la Federación 2013 Ene 22.

102. Frank-Stromborg M, Olsen S. Instruments for Clinical Health-care Research. 3a. ed. Massachusetts: Jones & Bartlett Learning; 2004. 278–292 p.
103. World Health Organization. Actividad física [Internet]. [cited 2015 Oct 26]. Available from: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/pa/es/>
104. World Health Organization. Body mass index - BMI [Internet]. [cited 2020 Feb 22]. Available from: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi>
105. Talavera J, Rivas R. Del juicio clínico al ensayo clínico. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2013;51:S58–63.
106. Width M, Reinhard T. Guía básica de bolsillo para el profesional de la nutrición clínica. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2010. 11 p.
107. World Health Organization. Vigilancia global de la actividad física [Internet]. World Health Organization; [cited 2016 Mar 24]. Available from: <http://www.who.int/chp/steps/GPAQ/es/>
108. Sánchez-Tapia M, Tovar AR, Torres N. Diet as Regulator of Gut Microbiota and its Role in Health and Disease. Arch Med Res. 2019 Jul 1;50(5):259–68.
109. Sumithran P, Prendergast L, Delbridge E, Purcell K, Shulkes A, Kriketos A, et al. Long-term persistence of hormonal adaptations to weight loss. N Engl J Med. 2011;365:1597–604.
110. World Medical Association. Declaration of Helsinki. Bull World Health Organ. 2001;79:373–4.
111. Secretaría de Salud de México, Diario Oficial de la Federación. Ley General de Salud. México; 2016 p. 268.
112. Azad MB, Abou-Setta AM, Chauhan BF, Rabbani R, Lys J, Copstein L, et al.

Nonnutritive sweeteners and cardiometabolic health: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials and prospective cohort studies. Can Med Assoc J. 2017;189(28):E929–39.

113. Nichol AD, Holle MJ, An R. Glycemic impact of non-nutritive sweeteners: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Eur J Clin Nutr. 2018;72(6):796–804.
114. Sonnenburg JL, Bäckhed F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. Nature. 2016 Jul 6;535(7610):56–64.
115. Mazgaaen L, Gurung P. Recent Advances in Lipopolysaccharide Recognition Systems. Int J Mol Sci. 2020 Jan 2;21(2):379.
116. Ze X, Duncan SH, Louis P, Flint HJ. *Ruminococcus bromii* is a keystone species for the degradation of resistant starch in the human colon. ISME J. 2012 Aug;6(8):1535–43.
117. Martín R, Bermúdez-Humarán LG, Langella P. Searching for the Bacterial Effector: The Example of the Multi-Skilled Commensal Bacterium *Faecalibacterium prausnitzii*. Front Microbiol. 2018 Mar 6;9:346.
118. Leylabadlo HE, Ghotaslou R, Feizabadi MM, Farajnia S, Moaddab SY, Ganbarov K, et al. The critical role of *Faecalibacterium prausnitzii* in human health: An overview. Microb Pathog. 2020 Dec 1;149:104344.
119. Zmora N, Suez J, Elinav E. You are what you eat: diet, health and the gut microbiota. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2019 Jan 1;16(1):35–56.
120. Sánchez-Tapia M, Martínez-Medina J, Tovar AR, Torres N. Natural and artificial sweeteners and high fat diet modify differential taste receptors, insulin, and TLR4-mediated inflammatory pathways in adipose tissues of rats. Nutrients. 2019;11(4):880.
121. Dai X, Guo Z, Chen D, Li L, Song X, Liu T, et al. Maternal sucralose intake alters gut microbiota of offspring and exacerbates hepatic steatosis in adulthood. Gut Microbes. 2020 Jul 3;11(4):1043–63.

122. Shi Z, Chen G, Cao Z, Wu F, Lei H, Chen C, et al. Gut Microbiota and Its Metabolite Deoxycholic Acid Contribute to Sucralose Consumption-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Agric Food Chem.* 2021 Apr 7;69(13):3982–91.
123. Agus A, Clément K, Sokol H. Gut microbiota-derived metabolites as central regulators in metabolic disorders. *Gut.* 2021 Jun 1;70(6):1174–82.
124. Janeiro MH, Ramírez MJ, Milagro FI, Martínez JA, Solas M. Implication of Trimethylamine N-Oxide (TMAO) in Disease: Potential Biomarker or New Therapeutic Target. *Nutrients.* 2018 Oct 1;10(10):1398.
125. Zhang Y, Wang Y, Ke B, Du J. TMAO: how gut microbiota contributes to heart failure. *Transl Res.* 2021 Feb 1;228:109–25.
126. Serralde-Zúñiga AE, Guevara-Cruz M, Tovar AR, Herrera-Hernández MF, Noriega LG, Granados O, et al. Omental adipose tissue gene expression, gene variants, branched-chain amino acids, and their relationship with metabolic syndrome and insulin resistance in humans. *Genes Nutr.* 2014 Sep 27;9(6):1–10.
127. Medina-Vera I, Sanchez-Tapia M, Noriega-López L, Granados-Portillo O, Guevara-Cruz M, Flores-López A, et al. A dietary intervention with functional foods reduces metabolic endotoxaemia and attenuates biochemical abnormalities by modifying faecal microbiota in people with type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2019 Apr 1;45(2):122–31.
128. Precup G, Vodnar DC. Gut Prevotella as a possible biomarker of diet and its eubiotic versus dysbiotic roles: a comprehensive literature review. *Br J Nutr.* 2019 Jul 28;122(2):131–40.
129. Qin X. Letter: Non-Nutritive Sweeteners May Have a Bell-Shaped Dose Response for Dysbiosis-Related Adverse Effects That Contributed to Discrepancies between Prospective Cohort and Randomized Controlled Studies. *J Obes Metab Syndr.* 2020 Sep 30;29(3):237–9.

130. Hughes RL, Davis CD, Lobach A, Holscher HD. An Overview of Current Knowledge of the Gut Microbiota and Low-Calorie Sweeteners. *Nutr Today*. 2021 May 1;56(3):105–13.
131. Del Pozo S, Gómez-martínez S, Díaz LE, Nova E, Urrialde R, Marcos A. Potential Effects of Sucralose and Saccharin on Gut Microbiota: A Review. *Nutrients*. 2022 Apr 1;14(8):1682.
132. Mace OJ, Schindler M, Patel S. The regulation of K- and L-cell activity by GLUT2 and the calcium-sensing receptor CasR in rat small intestine. *J Physiol*. 2012;590(12):2917–36.
133. Viveros-Watty PE, López-Franco O, Zepeda RC, Aguirre G, Rodríguez-Alba JC, Gómez-Martínez MA, et al. Effects on cardiometabolic risk factors after reduction of artificially sweetened beverage consumption in overweight subjects. A randomised controlled trial. *Endocrinol diabetes y Nutr*. 2022 Mar;69(3):168–77.
134. Grotz VL, Munro IC. An overview of the safety of sucralose. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2009;55(1):1–5.
135. Magnuson BA, Roberts A, Nestmann ER. Critical review of the current literature on the safety of sucralose. *Food Chem Toxicol*. 2017 Aug 1;106(Pt A):324–55.
136. Spencer M, Gupta A, Dam L Van, Shannon C, Menees S, Chey WD. Artificial Sweeteners: A Systematic Review and Primer for Gastroenterologists. *J Neurogastroenterol Motil*. 2016;22(2):168–80.
137. Mendoza-Martínez VM, Zavala-Solares MR, Espinosa-Flores AJ, León-Barrera KL, Alcántara-Suárez R, Carrillo-Ruiz JD, et al. Is a Non-Caloric Sweetener-Free Diet Good to Treat Functional Gastrointestinal Disorder Symptoms? A Randomized Controlled Trial. *Nutrients*. 2022 Mar 1;14(5):1095.
138. Patel RM, Sarma R, Grimsley E. Popular Sweetner Sucralose as a Migraine

- Trigger. Headache J Head Face Pain. 2006;46(8):1303–4.
139. Hirsch AR. Migraine Triggered by Sucralose-A Case Report. Headache J Head Face Pain. 2007;47(3):447–447.
  140. Bigal ME, Krymchantowski A V. Migraine triggered by sucralose--a case report. Headache. 2006 Mar;46(3):515–7.
  141. Martin VT, Vij B. Diet and Headache: Part 1. Headache. 2016 Oct 1;56(9):1543–52.
  142. Rios-Leyvraz M, Montez J. Health effects of the use of non-sugar sweeteners: a systematic review and meta-analysis. Geneva; 2022.
  143. Zafrilla P, Masoodi H, Cerdá B, García-Viguera C, Villaño D. Biological effects of stevia, sucralose and sucrose in citrus-maqui juices on overweight subjects. Food Funct. 2021;12(18):8535–43.
  144. American Diabetes Association. 5. Facilitating Behavior Change and Well-being to Improve Health Outcomes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. Diabetes Care. 2022 Jan 1;45(Suppl 1):S60–82.
  145. World Health Organization. Draft guideline on use of non-sugar sweeteners. Geneva; 2022.

Anexo 1: Carta de aprobación del Comité de Ética y de Investigación y Carta de  
consentimiento informado



INSTITUTO NACIONAL DE  
CIENCIAS MÉDICAS  
Y NUTRICIÓN  
SALVADOR ZUBIRÁN

CIUDAD DE MÉXICO, A 09 DE JULIO DE 2018

No. Oficio MCNTROL-0895/2018

REG. CONBIOÉTICA-09-CEI-011-20160627

DRA. PALOMA ALMEDA VALDES  
INVESTIGADORA PRINCIPAL  
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN ENFERMEDADES METABÓLICAS  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN  
AV. VASCO DE QUIROGA No. 15  
COL. BELISARIO DOMÍNGUEZ SECCIÓN XVI  
CIUDAD DE MÉXICO, C.P. 14080  
PRESENTE

Por este medio, nos permitimos informarle que el *Comité de Investigación*, así como el *Comité de Ética en Investigación* del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, han revisado y aprobado el Protocolo de Investigación Clínica, titulado:

"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"

versión junio 2018

REF. 2635

Así mismo se revisó y aprobó la siguiente documentación:

- CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO, VERSIÓN 2, JUNIO 2018

La vigencia de la aprobación termina el día 09 de julio de 2019. Si la duración del estudio es mayor tendrá que solicitar la re-aprobación anual del mismo, informando sobre los avances y resultados parciales de su investigación e incluyendo todos los datos sobresalientes y conclusiones.

POR FAVOR CUANDO TERMINE EL PROTOCOLO DEBERÁ ENVIAR CARTA DE AVISO DE CIERRE.

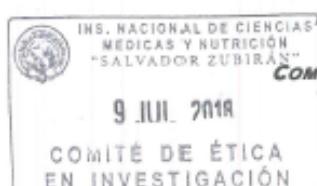
Sin más por el momento quedamos de usted.

ATENTAMENTE,

PD. *Paloma Almeda*

DR. CARLOS A. AGUILAR SALINAS  
PRESIDENTE  
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

Avenida Vasco de  
Quiroga c.nº Dr. Gérardo Gamboa Ayala, Director de Investigación.  
Colonia BELLAS ARTES, D.F.  
Domínguez Sección XVI  
Delegación Tlalpan  
Código Postal 14080  
Ciudad de México  
Tel. (52-55)54870900  
[www.incmnsz.mx](http://www.incmnsz.mx)



DR. ARTURO GALINDO FRAGA  
PRESIDENTE  
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



## CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL 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.**

**VERSIÓN 2, JUNIO DE 2018**

**Investigador principal:** Dra. Paloma Almeda Valdés.

**Dirección del investigador:** Departamento de Endocrinología y Metabolismo INCMNSZ.  
Vasco de Quiroga 15 Col. Belisario Domínguez Sección XVI, C.P. 14080 Del. Tlalpan.  
México DF.

**Teléfono de contacto del investigador (incluyendo uno para emergencias 24 horas):**  
54870900 extensiones 2405 y 2407 y emergencias al 5554578531 o al 4491157276.

**Investigadores participantes:** Dr. Carlos A. Aguilar Salinas, M. en C. Alonso Romo  
Romo, Dra. Nimbe Torres y Torres, M. en C. Griselda X. Brito Córdova.

**Nombre del patrocinador del estudio:** No aplica.

**Dirección del patrocinador:** No aplica.

**Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación:** Versión 2, junio  
2018.

#### **INTRODUCCIÓN:**

Este documento es una invitación a participar en un estudio de investigación del Instituto. Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento; pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga.

Procedimiento para dar su consentimiento. Usted tiene el derecho a decidir si quiere participar o no como sujeto de investigación en este proyecto. El investigador le debe explicar ampliamente los beneficios y riesgos del proyecto sin ningún tipo de presión y **usted tendrá todo el tiempo que requiera para pensar, solo o con quien usted decida consultarla, antes de decidir si acepta participar.** Cualquiera que sea su decisión no tendrá efecto alguno sobre su atención médica en el Instituto.

Con el fin de tomar una decisión verdaderamente informada sobre si acepta participar o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los posibles riesgos y beneficios a su salud al participar. Este documento le dará información detallada acerca del estudio de investigación, la cual podrá comentar quien usted quiera, por ejemplo un familiar, su médico tratante, el investigador principal de este estudio o con algún miembro del equipo de investigadores. Al final, una vez leída y entendida esta información, se le invitará a que forme parte del proyecto y si usted acepta, sin ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

Este consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la Declaración de Helsinki, y a las Buenas Prácticas Clínicas emitidas por la Comisión Nacional de Bioética.

Al final de la explicación, usted debe entender los puntos siguientes:

- I. La justificación y los objetivos de la investigación.
- II. Los procedimientos que se utilizarán y su propósito, incluyendo la identificación de qué son procedimientos experimentales.
- III. Los riesgos o molestias previstos.
- IV. Los beneficios que se pueden observar.
- V. Los procedimientos alternativos que pudieran ser ventajosos para usted
- VI. Garantía para recibir respuestas a las preguntas y aclarar cualquier duda sobre los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y el tratamiento de la materia.
- VII. La libertad que tiene de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio, sin que por ello se afecte su atención y el tratamiento en el Instituto.
- VIII. La seguridad de que no se le va a identificar de forma particular y que se mantendrá la confidencialidad de la información relativa a su privacidad.
- IX. El compromiso del investigador de proporcionarle la información actualizada que pueda ser obtenida durante el estudio, aunque esto pudiera afectar a su disposición para continuar con su participación.
- X. La disponibilidad del tratamiento médico y compensación a que legalmente tiene derecho, en el caso de que ocurran daños causados directamente por la investigación.

**Puede solicitar más tiempo o llevar a casa este formulario antes de tomar una decisión final en los días futuros.**

#### **INVITACION A PARTICIPAR COMO SUJETO DE INVESTIGACION Y DESCRIPCION DEL PROYECTO**

Estimado(a) Sr(a).

---

El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), a través del grupo de investigación, le invitan a participar como sujeto de investigación en este estudio que tiene como objetivo: conocer los efectos y la forma en que la sacralosa, un sustituto del azúcar que no tiene calorías, modifica la regulación del azúcar en la sangre.

La duración total del estudio es de un año y medio y su participación en el estudio tendrá una duración de 7 semanas aproximadamente.

El número aproximado de participantes será: 24.

Usted fue invitado al estudio debido a que tiene las siguientes características: es hombre o mujer de 20 a 45 años con peso normal y tiene un consumo bajo de productos que contienen sustitutos del azúcar.

## **PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO**

La intervención que se llevará a cabo en el estudio será consumir durante 30 días cápsulas que estén rellenas del sustituto del azúcar sacralosa, o bien, de pequeñas cantidades de almidón de maíz, al que se le llamará “placebo” y que no generará ningún efecto en usted.

Usted será asignado(a) a uno de los dos grupos mediante un sorteo. Se le entregará un sobre sellado que indique un número asignado consecutivamente y en su interior indicará si pertenece al grupo “A” o al grupo “B”. Ni usted ni los investigadores conocerán el contenido de las cápsulas del grupo A o el grupo B.

Su participación en el estudio consiste en asistir a 5 visitas:

### **Visita 1**

Se le citará con ayuno de 8 a 12 horas en la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas para llevar a cabo una prueba de tolerancia a la glucosa que evalúa la forma en que su cuerpo procesa la glucosa o azúcar. La duración aproximada de esta visita es de 2 horas. En esta prueba usted tendrá que ingerir una cantidad de glucosa en forma líquida y se tomará una muestra de sangre de 5 mililitros (una cucharadita) antes de iniciar la prueba y otra a las dos horas. En esta misma visita, se le aplicará un cuestionario para conocer la frecuencia con la que consume alimentos que contienen sustitutos de azúcar. Se medirá su peso, estatura, cintura y cadera. Se le aplicarán dos cuestionarios para calcular la actividad física que realiza y se le pedirá que mencione todos los alimentos que consumió un día antes. De igual forma, se registrará su presión arterial y pulso.

Se le pedirá que a partir de esta visita, no cambie la alimentación que normalmente lleva, la actividad física y/o ejercicio que siempre hace y que no consuma otros productos o alimentos que contengan sustitutos de azúcar durante toda su participación.

Finalmente, se le darán instrucciones para que en la siguiente visita usted entregue una muestra de heces que recolectará en su casa y se le brindará el material que necesita para esto.

En caso de los resultados de su curva de glucosa no sean normales y usted no pueda participar en el estudio, se le brindará orientación médica y nutricional.

### **Visita 2**

Se le citará con ayuno de 8 a 12 horas en la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas. El tiempo transcurrido entre la visita 1 y la 2 será de una semana o menos. La duración total de esta visita será aproximadamente de 3 horas.

Se le pedirá que entregue la muestra de heces que se le indicó en la visita 1 y se le realizará un estudio de composición corporal mediante un equipo llamado DXA (densitometría dual de rayos X), el cual nos permitirá conocer la cantidad de grasa, hueso y músculo que hay en su cuerpo. Para este estudio, es necesario que acuda con ropa cómoda (de preferencia ropa deportiva) y sin ningún objeto de metal como cierres, broches, botones, aretes o piercings, hebillas, anillos, pulseras, collares, etc. La duración aproximada de este estudio es de 30 minutos. En este estudio hay una exposición mínima a radiación que no representa ningún riesgo significativo para usted.

Posteriormente, se realizará una prueba con duración de dos horas en la que se le proporcionará y pedirá consumir un desayuno. Diez minutos antes de que inicie la prueba, se le pedirá ingerir una cápsula de acuerdo al grupo que le haya tocado. Para esta prueba,

se colocará un catéter en uno de sus brazos que permitirá la toma de muestras de sangre. En total se recolectarán 5 muestras de sangre equivalentes a una cantidad de sangre de 25 mililitros (dos cucharadas aproximadamente).

#### Visita 3

Se le citará con ayuno de 8 a 12 horas en la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas. El tiempo transcurrido entre la visita 2 y la 3 será de una semana o menos. La duración total de la visita será aproximadamente de 9 a 10 horas.

En esta visita se realizará una primera prueba para evaluar la acción de la insulina en su cuerpo. Se le pesará y se le pedirá que se recueste en una cama en donde permanecerá durante toda la prueba. Se colocarán dos catéteres (uno en cada brazo), para que puedan ser tomadas las muestras de sangre y se le puedan pasar diferentes soluciones con glucosa e insulina. Durante las primeras tres horas, se administrará continuamente una pequeña cantidad de una solución con glucosa. Durante los siguientes dos períodos de tres horas cada uno, se administrarán pequeñas cantidades de una solución con insulina y otra con glucosa. Durante este tiempo, se tomarán muestras de sangre de 1 ml cada 5 o 10 minutos. El total de sangre que se obtendrá en total no será mayor a 90 ml (aproximadamente 6 cucharadas). Uno de sus brazos deberá permanecer en una caja que aplica calor.

Al finalizar la prueba, recibirá un desayuno y se le entregará un frasco con las cápsulas que deberá tomar en los siguientes 30 días de acuerdo al grupo asignado.

Durante este mes, se solicitará que llene dos registros de los alimentos que consuma durante 3 días (2 días entre semana y 1 día en fin de semana); así como un formato en el que anotará la cantidad de cápsulas que tomó por día y si tuvo alguna molestia relacionada con el consumo de las cápsulas.

Estableceremos contacto vía telefónica con usted a las dos semanas para saber cómo está, si ha seguido las indicaciones o tiene alguna duda y recordarle sobre su siguiente visita.

#### Visita 4

Se le citará con ayuno de 8 a 12 horas en la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas. El tiempo transcurrido entre la visita 3 y la 4 será de 30 días. La duración total de la visita será aproximadamente de 9 a 10 horas.

En esta visita se realizará la segunda prueba para evaluar la acción de la insulina en su cuerpo y se llevarán a cabo los mismos procedimientos mencionados en la visita 3: se le colocará un catéter en cada brazo y se tomarán muestras de sangre (90 ml o aproximadamente 6 cucharadas).

Se le pedirá que entregue el frasco que se le dio en la visita anterior con todas las cápsulas que no haya tomado. También deberá entregar el formato de registro del número de cápsulas tomadas al día y los dos registros de consumo de alimentos solicitados.

Se le volverán a aplicar los cuestionarios de actividad física y deberá entregar otra muestra de heces con las mismas indicaciones y cuidados especificados para la muestra anterior.

#### Visita 5

Se le citará con ayuno de 8 a 12 horas en la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas. El tiempo transcurrido entre la visita 4 y la 5 será de 3 días o menos. La duración total de la visita será aproximadamente de 2 horas.

En esta visita se realizará otra prueba de dos horas. Se le pedirá que consuma un desayuno que se le proporcionará, igual al de la visita 2 y se seguirán los mismos procedimientos mencionados anteriormente, incluyendo la canalización de un brazo y la toma de 5 muestras de sangre de 5 ml cada una (aproximadamente dos cucharadas en total).

Finalmente, se le brindará orientación nutricional y se le entregarán los resultados de los exámenes de laboratorio que se le realizaron durante el estudio.

Sus responsabilidades incluyen la asistencia puntual a las visitas, cumplir con la toma de las cápsulas y llenar los diferentes registros que se le entreguen durante el estudio.

## **RIESGOS E INCONVENIENTES**

El Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, señala que la obtención de muestras biológicas representa un riesgo mínimo dentro de la investigación. Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo y raramente puede producirse punción arterial. El personal que extraerá la muestra sanguínea está entrenado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones.

Los estudios para evaluar el control del azúcar en la sangre implican la canalización y colocación de catéteres en dos venas, lo cual puede causar dolor y rara vez un moretón en el sitio de la punción. La cantidad de sangre obtenida en los estudios no implica riesgos para su salud. La insulina puede causar hipoglucemia (baja de azúcar en la sangre), sin embargo, la cantidad que se administrará es poca y la posibilidad de esta complicación es baja. En caso de ser asignado al grupo que tomará cápsulas con sucralosa (sustituto del azúcar), la cantidad que consumirá todos los días no representa ningún riesgo. Esta cantidad es el 30% de lo que podría consumir cada día durante toda la vida. No existe ningún tipo de riesgo en la obtención de las muestras de heces.

Los datos acerca de su identidad y su información médica no serán revelados en ningún momento como lo estipula la ley, por lo tanto, en la recolección de datos clínicos usted no enfrenta riesgos mayores a los relativos a la protección de la confidencialidad la cual será protegida mediante la codificación de las muestras y de su información.

## **BENEFICIOS POTENCIALES**

Este estudio no está diseñado para beneficiarle directamente. Sin embargo, se generará conocimiento acerca de los efectos a la salud que causa el consumo de la sucralosa.

Dentro de los beneficios que usted recibirá será el recibir los resultados de sus estudios de laboratorio que proporcionan información sobre su estado de salud, además de obtener orientación nutricional personalizada.

## **CONSIDERACIONES ECONÓMICAS**

No se cobrará ninguna tarifa por participar en el estudio ni se le hará pago alguno. Los gastos de sus estudios serán cubiertos por fondos de la investigación.

## **COMPENSACION**

Si llegara a presentarse alguna complicación como resultado directo de su participación en este estudio, por parte del protocolo le proporcionaremos el tratamiento inmediato y lo referiremos, si lo amerita, al especialista médico que requiera. El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán no brinda ningún tipo adicional de compensación para cubrir el daño.

## **ALTERNATIVAS A SU PARTICIPACIÓN:**

Su participación es voluntaria. Sin embargo, usted puede elegir no participar en el estudio. El trato y atención que recibe no se verán modificados porque usted decida no participar o interrumpir su participación. Usted puede declinar la realización de alguna de las pruebas arriba descritas.

## **POSIBLES PRODUCTOS COMERCIALES DERIVABLES DEL ESTUDIO:**

En este protocolo no se generarán productos comerciales.

## **ACCIONES A SEGUIR DESPUÉS DEL TÉRMINO DEL ESTUDIO:**

Usted puede solicitar los resultados de sus exámenes clínicos y de las conclusiones del estudio a la Dra. Paloma Almeda Valdés o al M. en C. Alonso Romo Romo del departamento de Endocrinología y Metabolismo del INCMNSZ (tel. 54870900 ext. 2405 y 2407). La investigación es un proceso largo y complejo. El obtener los resultados finales del proyecto puede tomar varios meses. Existe la posibilidad de que se pongan en contacto con usted al finalizar el estudio en caso de que se requiera obtener información adicional acerca de su participación en el mismo.

## **PARTICIPACIÓN Y RETIRO DEL ESTUDIO:**

Recuerde que su participación es VOLUNTARIA. Si usted decide no participar, su relación habitual con el INCMNSZ no se verá afectada. Si decide participar, tiene la libertad para retirar su consentimiento e interrumpir su participación en cualquier momento sin perjudicar su atención en el INCMNSZ. Se le informará a tiempo si se obtiene nueva información que pueda afectar su decisión para continuar en el estudio.

El investigador del estudio puede excluirlo del estudio si no se presenta en tiempo y forma a las visitas como fue acordado y/o no se siguen adecuadamente los procedimientos establecidos en este documento.

El estudio puede darse por terminado en forma prematura si se encuentran alteraciones significativas en las concentraciones de glucosa e insulina después de consumir las cápsulas.

## **CONFIDENCIALIDAD Y MANEJO DE SU INFORMACIÓN**

Su nombre no será usado en ninguno de los reporte públicos del estudio. Las muestras biológicas obtenidas no contendrán ninguna información personal y serán codificadas con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Por disposición legal, las muestras biológicas, incluyendo la sangre, son catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y por esta razón durante el curso de la investigación su muestra no podrá serle devuelta. Es posible que sus muestras biológicas, así como su información médica y/o genética, puedan ser usadas para otros proyectos de investigación análogos relacionados con la enfermedad en estudio. No podrán ser usados para estudios de investigación que estén relacionados con condiciones distintas a las estudiadas en este proyecto, y estos estudios deberán ser sometidos a aprobación por un Comité de Ética.

Sus muestras podrán ser almacenadas por los investigadores hasta por 4 años.

Los códigos que identifican su muestra estarán sólo disponibles a los investigadores titulares, quienes están obligados por Ley a no divulgar su identidad. Estos códigos serán guardados en un archivero con llave. Sólo los investigadores tendrán acceso a ellos. El personal del estudio (monitores o auditores) podrá tener acceso a la información de los participantes.

Si bien existe la posibilidad de que su privacidad sea afectada como resultado de su participación en el estudio, su confidencialidad será protegida como lo marca la ley, asignando códigos a su información. El código es un número de identificación que no incluye datos personales. Ninguna información sobre su persona será compartida con otros sin su autorización, excepto:

- Si es necesario para proteger sus derechos y bienestar (por ejemplo, si ha sufrido una lesión y requiere tratamiento de emergencia); o
- Es solicitado por la ley.

Si usted decide retirarse del estudio, podrá solicitar el retiro y destrucción de su material biológico y de su información. Todas las hojas de recolección de datos serán guardadas con las mismas medidas de confidencialidad, y solo los investigadores titulares tendrán acceso a los datos que tienen su nombre. Si así lo desea, usted deberá contactar a la Dra. Paloma Almeda Valdés o al M. en C. Alonso Romo Romo y expresar su decisión por escrito.

El Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ aprobó la realización de este estudio. Dicho comité es quien revisa, aprueba y supervisa los estudios de investigación en humanos en el Instituto. En el futuro, si identificamos información que consideremos importante para su salud, consultaremos con el Comité de Ética en Investigación para decidir la mejor forma de darle esta información a usted y a su médico. Además, le solicitamos que nos autorice contactarlo, en caso de ser necesario, para solicitarle información que podría ser relevante para el desarrollo de este proyecto.

Los datos científicos obtenidos como parte de este estudio podrían ser utilizados en publicaciones o presentaciones médicas. Su nombre y otra información personal serán eliminados antes de usar los datos.

Si usted lo solicita su médico de cabecera será informado sobre su participación en el estudio.

### **IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES:**

En caso de que usted sufra un daño relacionado al estudio o si tiene preguntas sobre el estudio, por favor póngase en contacto con la Dra. Paloma Almeda Valdés o el M. en C. Alonso Romo Romo en el departamento de Endocrinología y Metabolismo del INCMNSZ (teléfono: 54870900 ext. 2405 y 2407).

Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en el estudio, puede hablar con el Presidente del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ (Dr. Arturo Galindo Fraga, teléfono: 54870900. ext. 6101).

### **DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO**

He leído con cuidado este consentimiento informado, he hecho todas las preguntas que he tenido y todas han sido respondidas satisfactoriamente. Para poder participar en el estudio, estoy de acuerdo con todos los siguientes puntos:

Estoy de acuerdo en participar en el estudio descrito anteriormente. Los objetivos generales, particulares del reclutamiento y los posibles daños e inconvenientes me han sido explicados a mi entera satisfacción.

Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria mis muestras biológicas de sangre y heces para ser utilizadas en este estudio. Así mismo, mi información médica y biológica podrá ser utilizada con los mismos fines.

Estoy de acuerdo, en caso de ser necesario, que se me contacte en el futuro si el proyecto requiere colectar información adicional o si encuentran información relevante para mi salud.

Mi firma también indica que he recibido un duplicado de este consentimiento informado.

Por favor responda las siguientes preguntas:

	<b>SÍ (marque por favor)</b>	<b>NO (marque por favor)</b>
a. ¿Ha leído y entendido el formato de consentimiento informado, en su lengua materna?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b. ¿Ha tenido la oportunidad de hacer preguntas y de discutir este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c. ¿Ha recibido usted respuestas satisfactorias a todas sus preguntas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d. ¿Ha recibido suficiente información acerca del estudio y ha tenido el tiempo suficiente para tomar la decisión?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
e. ¿Entiende usted que su participación es voluntaria y que es libre de suspender su participación en este estudio en cualquier momento sin tener que justificar su decisión y sin que esto afecte su atención médica o sin la pérdida de los beneficios a los que de otra forma tenga derecho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

	SÍ (marque por favor)	NO (marque por favor)
f. ¿Entiende los posibles riesgos, algunos de los cuales son aún desconocidos, de participar en este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
g. ¿Entiende que puede no recibir algún beneficio directo de participar en este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
h. ¿Entiende que no está renunciando a ninguno de sus derechos legales a los que es acreedor de otra forma como sujeto en un estudio de investigación?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
i. ¿Entiende que el médico participante en el estudio puede retirarlo del mismo sin su consentimiento, ya sea debido a que usted no siguió los requerimientos del estudio o si el médico participante en el estudio considera que médicaamente su retiro es en su mejor interés?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
j. ¿Entiende que usted recibirá un original firmado y fechado de esta Forma de Consentimiento para sus registros personales?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

#### **Declaración del paciente:**

Yo, \_\_\_\_\_ declaro que es mi decisión participar como sujeto de investigación clínica en el estudio. Mi participación es voluntaria.

Se me ha informado que puedo negarme a participar o terminar mi participación en cualquier momento del estudio sin que sufra penalidad alguna o pérdida de beneficios. Si suspendo mi participación, recibiré el tratamiento médico habitual al que tengo derecho en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) y no sufriré perjuicio en mi atención médica ni en futuros estudios de investigación. Yo puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos o beneficios potenciales derivados de mi participación en este estudio. También puedo obtener los resultados de mis exámenes clínicos si así los solicito.

Si tengo preguntas sobre el estudio, puedo ponerme en contacto con Dra. Paloma Almeda Valdés o M. en C. Alonso Romo Romo, tel. 54870900 ext. 2405 y 2407. Debo informar a los investigadores de cualquier cambio en mi estado de salud (por ejemplo, uso de nuevos medicamentos, cambios en el consumo de tabaco) o en la ciudad donde resido, tan pronto como sea posible.

He leído y entendido toda la información que me han dado sobre mi participación en el estudio. He tenido la oportunidad para discutirlo y hacer preguntas. Todas las preguntas han sido respondidas a mi satisfacción. He entendido que recibiré una copia firmada de este consentimiento informado.

Tengo claro que en caso de tener preguntas sobre mis derechos como sujeto de investigación clínica en este estudio, problemas, preocupaciones o dudas, y deseo obtener información adicional, o bien, hacer comentarios sobre el desarrollo del estudio, tengo la libertad de hablar con el presidente del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ (Dr. Arturo Galindo Fraga, tel: 54870900. ext. 6101).

---

Nombre del / de la Participante

---

Firma del / de la Participante

---

Fecha

---

Coloque la huella digital del participante sobre esta línea si no sabe escribir

---

Nombre del representante legal (si aplica)

---

Firma del representante legal

---

Fecha

---

Nombre del Investigador que explicó el documento

---

Firma del Investigador

---

Fecha

---

Nombre del Testigo 1

---

Firma del Testigo 1

---

Fecha

---

Relación con el participante:

Dirección: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

---

Nombre del Testigo 2

---

Firma del Testigo 2

---

Fecha

---

Relación con el participante:

Dirección: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Lugar y Fecha: \_\_\_\_\_

**(El presente documento es original y consta de 11 páginas).**



INCMNSZ

## Anexo 2: Formato de recolección de datos

### 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 sacarosa vs placebo durante 30 días en adultos aparentemente sanos

Iniciales: \_\_\_\_\_ Folio protocolo: \_\_\_\_\_ ID UIEM: \_\_\_\_\_

VISITA 1	
	Lectura y firma del consentimiento informado
	Toma de muestras (Genotipo) + CTOG de 2 horas
	Llenado del formato de recolección de datos
	Aplicación del primer cuestionario de actividad física Laval
	Aplicación del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos con ENN
	Antropometría (peso, talla, cintura, cadera, muñeca)
	Estudio de composición corporal por DXA
	Estudio de composición corporal por BIA
	Toma de presión arterial y frecuencia cardiaca
	Entrega de instrucciones con el menú para la cena un día antes de la visita 2
	Entrega del primer registro de consumo de alimentos de 3 días
VISITA 2	
	Pesar al participante
	Primer clamp euglucémico hiperinsulinémico con trazadores
	Entrega del material e infografía para recolección de muestra de heces
	Entrega de instrucciones para la siguiente visita
VISITA 3	
	Pesar al participante
	Recepción de la muestra basal de heces + muestra de orina
	Primera curva de 2 horas con desayuno estandarizado
	Recolección de recordatorio de alimentos de 24 horas
	Recepción del primer registro de consumo de alimentos de 3 días completo

	Entrega del frasco con cápsulas correspondiente al # de participante
	Entrega del formato de apego a la intervención
	Entrega del segundo registro de consumo de alimentos de 3 días
	Entrega de instrucciones con el menú para la cena un día antes de la visita 4
	Entrega del material para recolección de muestra de heces
	<b>LLAMADA AL DÍA 15 DEL PERIODO DE INTERVENCIÓN</b>
<b>VISITA 4</b>	
	Pesar al participante
	Recepción de la muestra final de heces + muestra de orina
	Segundo clamp euglucémico hiperinsulinémico con trazadores
	Recepción del frasco con las cápsulas sobrantes
	Recepción del segundo registro de consumo de alimentos de 3 días completo
	Recepción del formato de apego a la intervención
	Aplicación del segundo cuestionario de actividad física Laval
	Entrega de instrucciones para la siguiente visita
<b>VISITA 5</b>	
	Pesar al participante
	Segunda curva de 2 horas con desayuno estandarizado
	Recolección de recordatorio de alimentos de 24 horas
	Entrega del tercer registro de consumo de alimentos de 3 días
	Entrega de instrucciones para la siguiente visita
<b>VISITA 6</b>	
	Pesar al participante
	Toma de muestras en ayuno
	Recepción del tercer registro de consumo de alimentos de 3 días completo
	Aplicación del tercer cuestionario de actividad física Laval
	Entrega de todos los resultados al participante y plan de alimentación

## Formato de Recolección de datos

Nombre:			
Edad:	Fecha de nacimiento:	Folio UIEM:	
Folio Protocolo:	Sexo: H      M	Registro INCMNSZ:	
Tel. Celular:	Correo electrónico:		

Enfermedades diagnosticadas o que padeció:	
Medicamentos o suplementos que toma (tipo, dosis y frecuencia): [Hacer énfasis en uso de antiácidos, antiinflamatorios, laxantes y fibras para estreñimiento]	
Tratamiento con antibióticos en los últimos tres meses:	
Uso de probióticos (cápsulas, polvo, solución, etc.) en los últimos tres meses:	
Hábitos intestinales (frecuencia, cantidad y consistencia):	
Tabaquismo (frecuencia y cantidad):	
Consumo de alcohol (frecuencia, cantidad y tipo):	

### AHF

	Padres	Hermanos	Abuelos	Tíos
<b>Diabetes</b>				
<b>HTA</b>				
<b>Obesidad</b>				
<b>Hipertrigliceridemia</b>				
<b>Hipercolesterolemia</b>				
<b>Cáncer</b>				

## ANTROPOMETRÍA Y EXPLORACIÓN FÍSICA

Peso visita 1:	Peso visita 2:	Peso visita 3:
Peso visita 4:	Peso visita 5:	Peso visita 6:
Talla:	IMC:	Cintura:
Cadera:	ICC:	Muñeca:
Compleción:	Peso Teórico:	GEB:
RED:	TA:	FC:

## ACTIVIDAD FÍSICA

Cuestionario Laval V1:
Cuestionario Laval V4:
Cuestionario Laval V6:

## COMPOSICIÓN CORPORAL

DXA	MLG (kg):	Grasa visceral (g):
Región	% Grasa	Masa Total (kg)
Brazos		
Piernas		
Tronco		
Androide		
Ginoide		
Total		

BIA	Masa grasa (kg):	Masa grasa (%):
	Masa magra (kg):	Masa magra (%):
	Músculo esquelético (kg):	Aqua corporal total (L):
	Agua corporal total (%):	Agua extracelular (L):
	Agua extracelular (%):	Grasa visceral (kg):

## R24 HORAS V3

Hora	Tiempo	Alimentos

## R24 HORAS V5

Hora	Tiempo	Alimentos

## ANÁLISIS REGISTROS DE ALIMENTACIÓN

R24H V3:	g HC _____	g PROT _____	g LIP _____	g HCS _____	g FIBR _____
	% HC _____	% PROT _____	% LIP _____	% HCS _____	g FSOL _____
Kcal _____	g FINS _____	g AGMI _____	g AGPI _____	g AGS _____	
R24H V5:	g HC _____	g PROT _____	g LIP _____	g HCS _____	g FIBR _____
	% HC _____	% PROT _____	% LIP _____	% HCS _____	g FSOL _____
Kcal _____	g FINS _____	g AGMI _____	g AGPI _____	g AGS _____	
RCA1 D1:	g HC _____	g PROT _____	g LIP _____	g HCS _____	g FIBR _____
	% HC _____	% PROT _____	% LIP _____	% HCS _____	g FSOL _____
Kcal _____	g FINS _____	g AGMI _____	g AGPI _____	g AGS _____	
RCA1 D2:	g HC _____	g PROT _____	g LIP _____	g HCS _____	g FIBR _____
	% HC _____	% PROT _____	% LIP _____	% HCS _____	g FSOL _____
Kcal _____	g FINS _____	g AGMI _____	g AGPI _____	g AGS _____	
RCA1 D3:	g HC _____	g PROT _____	g LIP _____	g HCS _____	g FIBR _____
	% HC _____	% PROT _____	% LIP _____	% HCS _____	g FSOL _____
Kcal _____	g FINS _____	g AGMI _____	g AGPI _____	g AGS _____	
RCA2 D1:	g HC _____	g PROT _____	g LIP _____	g HCS _____	g FIBR _____
	% HC _____	% PROT _____	% LIP _____	% HCS _____	g FSOL _____
Kcal _____	g FINS _____	g AGMI _____	g AGPI _____	g AGS _____	
RCA2 D2:	g HC _____	g PROT _____	g LIP _____	g HCS _____	g FIBR _____
	% HC _____	% PROT _____	% LIP _____	% HCS _____	g FSOL _____
Kcal _____	g FINS _____	g AGMI _____	g AGPI _____	g AGS _____	
RCA2 D3:	g HC _____	g PROT _____	g LIP _____	g HCS _____	g FIBR _____
	% HC _____	% PROT _____	% LIP _____	% HCS _____	g FSOL _____
Kcal _____	g FINS _____	g AGMI _____	g AGPI _____	g AGS _____	
RCA3 D1:	g HC _____	g PROT _____	g LIP _____	g HCS _____	g FIBR _____
	% HC _____	% PROT _____	% LIP _____	% HCS _____	g FSOL _____
Kcal _____	g FINS _____	g AGMI _____	g AGPI _____	g AGS _____	
RCA3 D2:	g HC _____	g PROT _____	g LIP _____	g HCS _____	g FIBR _____
	% HC _____	% PROT _____	% LIP _____	% HCS _____	g FSOL _____
Kcal _____	g FINS _____	g AGMI _____	g AGPI _____	g AGS _____	
RCA3 D3:	g HC _____	g PROT _____	g LIP _____	g HCS _____	g FIBR _____
	% HC _____	% PROT _____	% LIP _____	% HCS _____	g FSOL _____
Kcal _____	g FINS _____	g AGMI _____	g AGPI _____	g AGS _____	

## RESULTADOS ANÁLISIS DE LABORATORIO

### VISITA 1

Glucosa basal (mg/dL):	Glucosa 2 h (mg/dL):	Insulina (mU/L):
Colesterol Total (mg/dL):	Colesterol LDL (mg/dL):	Colesterol HDL (mg/dL):
Triglicéridos (mg/dL):	Ácido úrico (mg/dL):	Creatinina (mg/dL):
ALT (U/L):	AST (U/L):	GGT (U/L):
apoB (mg/dL):	HbA1c (%):	Otros:

### VISITA 2

Valor M ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ):	
Glucosa Ra ( $\mu\text{mol/kg MLG/min}$ ):	Glucosa Rd ( $\mu\text{mol/kg MLG/min}$ ):
Glucosa 1-0' (mg/dL):	Insulina 1-0' (mU/L):
Glucosa 1-30' (mg/dL):	Insulina 1-30' (mU/L):
Glucosa 2-0' (mg/dL):	Insulina 2-0' (mU/L):
Glucosa 2-30' (mg/dL):	Insulina 2-30' (mU/L):
Glucosa 3-0' (mg/dL):	Insulina 3-0' (mU/L):
Glucosa 3-30' (mg/dL):	Insulina 3-30' (mU/L):

### VISITA 3

Tiempo	Glucosa (mg/dL)	Insulina (mU/L)	GLP-1 (pg/mL)	Péptido-C (pg/mL)
0'				
30'				
60'				
90'				
120'				

PCR (mg/dL):	IL-6 (pg/mL):
TNF-α (pg/mL):	LPS (ng/mL):

#### VISITA 4

Valor M ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ):	
Glucosa Ra ( $\mu\text{mol/kg MLG/min}$ ):	Glucosa Rd ( $\mu\text{mol/kg MLG/min}$ ):
Glucosa 1-0' (mg/dL):	Insulina 1-0' (mU/L):
Glucosa 1-30' (mg/dL):	Insulina 1-30' (mU/L):
Glucosa 2-0' (mg/dL):	Insulina 2-0' (mU/L):
Glucosa 2-30' (mg/dL):	Insulina 2-30' (mU/L):
Glucosa 3-0' (mg/dL):	Insulina 3-0' (mU/L):
Glucosa 3-30' (mg/dL):	Insulina 3-30' (mU/L):

#### VISITA 5

Tiempo	Glucosa (mg/dL)	Insulina (mU/L)	GLP-1 (pg/mL)	Péptido-C (pg/mL)
0'				
30'				
60'				
90'				
120'				

PCR (mg/dL):	IL-6 (pg/mL):
TNF- $\alpha$ (pg/mL):	LPS (ng/mL):

#### VISITA 6

Glucosa (mg/dL):	Insulina (mU/L):
Colesterol Total (mg/dL):	Colesterol LDL (mg/dL):
Colesterol HDL (mg/dL):	Triglicéridos (mg/dL):

PCR (mg/dL):	IL-6 (pg/mL):
TNF- $\alpha$ (pg/mL):	LPS (ng/mL):

Anexo 3: Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos adaptado a  
productos del mercado mexicano que contienen ENN

<b>SUSTITUTOS DE AZÚCAR</b>			
Número de producto	Tipo	Frecuencia	Cantidad de la porción
<b>SABORIZANTES DE AGUA</b>			
Número de producto	Tipo	Frecuencia	Cantidad de la porción
<b>BEBIDAS</b>			
Número de producto	Tipo	Frecuencia	Cantidad de la porción
<b>CEREALES</b>			
Número de producto	Tipo	Frecuencia	Cantidad de la porción

<b>GELATINAS</b>			
Número de producto	Tipo	Frecuencia	Cantidad de la porción
<b>LÁCTEOS</b>			
Número de producto	Tipo	Frecuencia	Cantidad de la porción
<b>DULCES</b>			
Número de producto	Tipo	Frecuencia	Cantidad de la porción
<b>OTROS</b>			
Número de producto	Tipo	Frecuencia	Cantidad de la porción

## LISTA DE REFERENCIA

Sustitutos de azúcar	1. Splenda sobres
	2. Splenda líquido
	3. Splenda Naturals Stevia
	4. Splenda Granulado
	5. Splenda Azúcar y Stevia
	6. Splenda Naturals Mascabado
	7. Stevia Super life
	8. Splenda Stevia líquido
	9. Pure via
	10. N'joy brand stevia
	11. Total sweet
	12. Canderel clásico
	13. Canderel Stevia
	14. Golden Hills
	15. Azúcar BC
	16. Great Value
	17. Valley foods
	18. Selecto Brand
	19. Zulka
	20. Sweeny sobres
Saborizantes de agua	21. Clight
	22. Zuko
	23. Zuko light
	24. Tang
	25. Livean
	26. Nestea
	27. Nature Factory
	28. Frut
	29. Frutimax

	30. Ades
	31. Aguafiel
	32. Altea
	33. Arizona
	34. Barrilitos
	35. Bonafont kids
	36. Bonafont Juizzy
	37. Bonafont Levité
	38. Be Light
	39. Ciel mini
	40. Ciel + sabor
	41. Cosecha pura
	42. Clamato
	43. Del valle
	44. E-purita
	45. E-pura minerales
Bebidas	46. E-pura Essentials
	47. Florida7
	48. Frutsi
	49. Fuze Tea
	50. Gatorade Active
	51. Lipton
	52. Jumex Fresh
	53. Jumex Bida
	54. Jumex Frutzzo
	55. Jumex Ami
	56. Nature`s Factory
	57. Nestlé aguitas
	58. Ocean Spray
	59. Pau pau
	60. Precissimo jugos de sabor
	61. Power ADE sin azúcar
	62. Coca Cola light

	63. Coca Cola sin azúcar
	64. Dr. Pepper light
	65. Fresca
	66. Fanta
	67. Mundet
	68. Manzanita Sol
	69. Manzanita Lift
	70. Mirinda
	71. Peñafiel
	72. Pepsi
	73. Pepsi light
	74. Pepsi Kick
	75. Peñafiel
	76. Peñafiel light
	77. Sangria Casera
	78. Sidral Mundet light
	79. Sprite
	80. Sprite zero
	81. Squirt
	82. Squirt light
	83. Vigor
	84. Valley foods light
	85. Vitaloe
	86. 7Up
	87. 7Up Libre
	88. H2oh
	89. Monster energy
	90. OKF Aloe Vera
	91. Vive 100
	92. Diet snapple
	93. Bonafina
	94. Suerox
	95. Lala Soy Vita

	96. A de coco
	97. GUD almendras
Cereales	98. Avena Instantánea Quaker
	99. Quaker Galletas sin azúcar
	100. Quaker cereal Multibran
	101. Tartas Quaker
	102. Granola Granvita 0% Azúcar
	103. Barra Granvita 0% azúcar
	104. Branli Granola Sin Azúcar
	105. Zuko Avena
	106. Hot Cakes ligeros Pronto
	107. Taifeld's Brownies light
	108. Taifelds galletas
	109. Pan Bimbo Cero Cero 0% azúcar adicionada
	110. Barras Multi grano nuez
	111. Voortman Bakery Galletas
	112. Choc&latte Hojuelas
	113. Nito Bimbo
	114. Bimbo Roles de Canela Glaseados
	115. Donitas espolvoreadas
	116. Hojuelitas 0% sugar free Gran vita
	117. Nestle Fitness
	118. Gran vita Hojuelitas 0% sugar free
	119. Cereal Kelloggs special
	120. Cereal Valley foods
	121. Bran Fruit
	122. Fiber Cookies
Gelatinas	123. Jell-O
	124. Flan Jell-O
	125. D'Gari
	126. D'Gari light
	127. Flan D'Gari

	128. Pronto
	129. Pronto reducida en azúcar
	130. Pronto light
	131. ART
	132. Stevien
	133. Carte D'or Holanda
	134. Valley Foods
	135. McCORMICK
	136. Bambi
	137. Yomi Lala
	138. Dannette
Lácteos	139. Svelty Figura 0%
	140. Lala Cero bebible
	141. Lala bebible
	142. Lala licuado
	143. Lala delicias
	144. Yoplait bebible
	145. Yoplait bebible doble cero
	146. Yoplait disfruta
	147. Yoplait yogurt
	148. Yoplait griego
	149. Yoplair griego sin azúcar
	150. Danone Vitalínea bebible sin azúcar
	151. Activia sin azúcar
	152. Activia bebible
	153. Vitalínea estilo griego
	154. Activia probióticos naturales
	155. Activia Shot Probioticos X2
	156. Oikos
	157. Danone sabor fresa
	158. Gastro protect
	159. Nutri yogurt
	160. Borden leche sabor chocolate

	161. Alpura vaquitas
	162. Benedik Capuccino light
	163. Café ole light
	164. Café Olé cappuccino moka deslactosado
	165. Nesquik leche sabor chocolate reducido en azúcar
	166. Yomi Lala
	167. Lala con café clasico deslactosado
	168. Leche hersheys sabor chocolate
	169. Nescafe capuccino
	170. San marcos lechita
	171. Nutri leche sabor licuado
	172. Coffee Mate vainilla Lite
	173. Yakult 40 LT
	174. Sofúl Yakult bebible
	175. Sofúl Yakult yoghurt
	176. Yoplait mini bebible
	177. Yoplait mini yoghurt
	178. Chiquitín yoghurth
Dulces	179. Trident
	180. Trident Xtra Care
	181. Trident X Layers
	182. Trdient Twist
	183. Clorets freshmint
	184. Halls mini sin azúcar
	185. Orbit menta sin azúcar
	186. Ice Breakers cubos
	187. Ice Breakers pastillas
	188. Cobalt
	189. Wrigley's Winterfresh
	190. Hubba Bubba bubble tap
	191. Juicy Fruit
	192. Winternmint

	193. Smint menta
	194. Caramelos sabor frutas Tasty Diabetics
	195. Jarabe sabor a maple D'Gari
	196. Chocolate Larín sin azúcar
	197. Kranks
	198. Insoireka pinta fruit (obleas)
	199. Hojuelas Choco&latte
	200. Chocolate con leche Choc&latte
	201. Almendras cubiertas con chocolate Choc&latte
	202. Merengues Sweetwell con fresa
	203. Paletas manhattan reducidas en azúcar
	204. Holanda ChikitiFRIZkul
Otros	205. Hershey's Jarabe de Chocolate Light
	206. Mermelada Smucker's Sin Azúcar
	207. Mermelada McCormick Sin Azúcar
	208. Valley Foods mermelada reducida en azúcar
	209. Vitamin Choco genius
	210. CAL C TOSE menos azúcar
	211. Chocomilk 50% menos azúcar
	212. Nesquik en polvo
	213. Polvo Nescafé para Cappuccino Light
	214. Coffee Mate vainilla Lite
	215. Clemente Rebanadas de piña reducidas en azúcar
	216. Be loe trozos de aloe vera en almíbar
	217. Jarabe sabor a maple D'Gari

## Anexo 4: Cuestionario de actividad física de la Universidad de Laval

Nombre \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

### **Instrucciones**

Cada rectángulo situado a la derecha de la columna de horas corresponde a un periodo de 15 minutos. Cada hora está fraccionada en cuatro períodos de 15 minutos. A partir de la lista de actividades dadas en la columna del lado izquierdo (“Actividades Físicas”), escriba el número correspondiente a la actividad que usted practica durante cada periodo de 15 minutos. Si una actividad es practicada durante un largo periodo (por ejemplo, dormir), usted puede hacer un trazo horizontal continuo en los rectángulos que siguen, hasta que se cambie de actividad.

ACTIVIDADES FÍSICAS		
Categoría de Actividad	Ejemplo de actividades para cada categoría	Gasto energético aprox (kcal kg/15 min)
1	Acostado: dormido o recostado en descanso	0.26
2	Sentado: escuchando clases, comiendo, escribiendo, leyendo, escuchando radio o TV, tomando un baño de tina	0.38
3	De pie o actividad ligera: lavarse, rasurarse, peinarse o cocinar	0.57
4	Vestirse, bañarse, conducir un auto o caminar tranquilo	0.70
5	Trabajo manual ligero: de limpieza (barrer, sacudir, etc.), panadero, zapatero, mecánico, electricista, pintor, oficinista, laboratorista, peluquera, trabajador de industria o granjero (alimentar animales), conducir moto o caminar moderadamente (ir a la escuela o de compras)	0.83
6	Actividades deportivas ligeras: volibol, beisbol, golf, boliche, bicicleta (pasear) o futbol colegial	1.20
7	Trabajo manual moderado: obrero (industria o albañil), cargador, trabajo de plantación, forestal o de mina	1.40
8	Actividades deportivas moderadas: bádminton, ciclismo (rápido), danza, gimnasia, caminata, natación, aeróbicos, tenis o trotar	1.50
9	Trabajo manual intenso: forestal (tirar árboles), granjero o campesino (sembrar o arar los campos) Actividades deportivas intensas: carreras a pie, futbol, squash, basquetbol, raquetbol, salto de cuerda, boxeo	1.95

Hora	Minutos			
	0-15	16-30	31-45	45-60
0 am				
1 am				
2 am				
3 am				
4 am				
5 am				
6 am				
7 am				
8 am				
9 am				
10 am				
11 am				
12 pm				
13 pm				
14 pm				
15 pm				
16 pm				
17 pm				
18 pm				
19 pm				
20 pm				
21 pm				
22 pm				
23 pm				

## Anexo 5: Instrucciones para cada visita durante el protocolo



**INCMNSZ**

### **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 sucralosa vs placebo durante 30 días en adultos aparentemente sanos**

#### Instrucciones para la VISITA 1

Se le invita a participar al protocolo de investigación debido a que cumple con las siguientes características:

- a) Hombre o mujer de 20 a 45 años de edad
- b) No tiene actualmente diagnóstico de diabetes ni prediabetes
- c) Tiene un bajo consumo habitual de edulcorantes no nutritivos (sustitutos del azúcar)
- d) Tiene un peso saludable (índice de masa corporal de 18.5-24.9 kg/m<sup>2</sup>)
- e) No toma medicamentos que afecten la glucosa o que haya tomado antibióticos o probióticos en los últimos 3 meses
- f) No fuma
- g) No presenta enfermedades graves del hígado, riñón o gastrointestinales
- h) No está embarazada o en periodo de lactancia

A partir de ahora se le pedirá que por favor no consuma productos que contenga edulcorantes no nutritivos (sustitutos de azúcar), como por ejemplo: refrescos o bebidas "light", gelatina, saborizantes de agua, yogurt "light", chicles, mermeladas sin azúcar, etc. Se le proporcionará una lista de los productos más comunes en México que contienen estos sustitutos del azúcar para que pueda identificarlos.

La fecha de su primera visita es: \_\_\_\_\_

Se le pedirá que acuda a las 8:00 am a la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas (UIEM) de manera puntual. Deberá asistir con un ayuno de 10 a 12 horas. La duración aproximada de la visita es de 3 horas. Se le realizará una curva de tolerancia oral a la glucosa en donde tendrá que tomar un líquido con azúcar y se le tomarán dos muestras de sangre: al iniciar y dos horas después. Además, se le harán estudios de composición corporal, densitometría y se le aplicarán algunos cuestionarios.

- a) Acudir con ropa cómoda.
- b) No consumir alcohol ni fumar por lo menos un día antes.
- c) Tratar de dormir lo suficiente (8 horas) la noche anterior.

Cualquier duda comunicarse con el M.C. Alonso Romo al teléfono (449) 115 7276.



INCMNSZ

**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 sucralosa vs placebo durante 30 días en adultos aparentemente sanos**

Instrucciones para la VISITA 2

1. No deben modificarse los hábitos de alimentación y ejercicio que practica normalmente, tal y como los reflejó en los cuestionarios que se le aplicaron. Es decir, usted seguirá consumiendo los alimentos y realizando la actividad física que acostumbra, esto es muy importante para que no se alteren los resultados de la investigación.
2. Durante su participación en el estudio, no consuma productos que contenga edulcorantes no nutritivos (sustitutos de azúcar), como por ejemplo: refrescos o bebidas "light", gelatina, saborizantes de agua, yogurt "light", chicles, mermeladas sin azúcar, etc.
3. Recuerde que debe de ir llenando el registro de consumo de alimentos de tres días (dos días entre semana y un día en fin de semana) que se le proporcionó para entregarlo completo en la visita 3. Por favor, especifique todos los alimentos consumidos incluyendo bebidas e ingredientes como la grasa y el azúcar que se usó para la preparación de sus alimentos.

La fecha de su próxima visita es: \_\_\_\_\_

Se le pedirá que acuda a las 7:00 am a la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas (UIEM) de manera puntual, ya que el estudio que se le realizará (clamp) dura aproximadamente 9 horas y es necesario iniciar lo más pronto posible. Deberá asistir con un ayuno de 10 a 12 horas.

- a) Acudir con ropa cómoda.
- b) No consumir alcohol ni fumar por lo menos un día antes.
- c) Tratar de dormir lo suficiente (8 horas) la noche anterior.
- d) La noche previa a la visita, realizar la siguiente cena aproximadamente a las 8 pm.

Preparación:	_____
Ingredientes:	_____
	_____
	_____
	_____
	_____
	_____
	_____

Cualquier duda comunicarse con el M.C. Alonso Romo al teléfono (449) 115 7276.



INCMNSZ

**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 sucralosa vs placebo durante 30 días en adultos aparentemente sanos**

Instrucciones para la VISITA 3

1. No deben de modificarse los hábitos de alimentación y ejercicio que practica normalmente, tal y como los reflejó en los cuestionarios que se le aplicaron. Es decir, usted seguirá consumiendo los alimentos y realizando la actividad física que acostumbra, esto es muy importante para que no se alteren los resultados de la investigación.
2. Durante su participación en el estudio, no consuma productos que contenga edulcorantes no nutritivos (sustitutos de azúcar), como por ejemplo: refrescos o bebidas "light", gelatina, saborizantes de agua, yogurt "light", chicles, mermeladas sin azúcar, etc.
3. Recuerde traer completo en la próxima visita, el registro de consumo de alimentos de tres días (dos días entre semana y un día en fin de semana) que se le proporcionó en la visita 1. Por favor, especifique todos los alimentos consumidos incluyendo bebidas e ingredientes como la grasa y el azúcar que se usó para la preparación de sus alimentos.
4. Se le pedirá una muestra de orina, por lo que es necesario que vaya al baño en su casa al despertar y posteriormente consuma un vaso de agua (250 ml aproximadamente) antes de salir de su casa para poder proporcionarnos la muestra.
5. Se le proporcionará todo el material necesario para que usted recolecte una muestra de heces que entregará en la siguiente visita: hielera, frasco, hielo gel para refrigeración, guantes y plato desechable. Además, se le dará una infografía con las instrucciones que debe de seguir para la recolección de la muestra. Una vez recolectada la muestra de heces en su casa, deberá guardarse en el refrigerador. Al día siguiente, poner el frasco con la muestra dentro de la hielera junto con los geles congelados para transportarla hasta el instituto.

La fecha de su próxima visita es: \_\_\_\_\_

Se le pedirá que acuda a las 8:00 am en el Departamento de Endocrinología y Metabolismo de manera puntual. Deberá asistir con un ayuno de 10 a 12 horas. Se llevará a cabo una curva con duración de dos horas en donde se le proporcionará un desayuno y se le tomarán 5 muestras de sangre durante la curva. El tiempo total de la visita será de aproximadamente 3 horas.

- a) Acudir con ropa cómoda.
- b) No consumir alcohol ni fumar por lo menos un día antes.
- c) Tratar de dormir lo suficiente (8 horas) la noche anterior.
- d) Traer su muestra de heces de acuerdo a las instrucciones.
- e) Traer su registro de consumo de alimentos de tres días completo.

Cualquier duda comunicarse con el M.C. Alonso Romo al teléfono (449) 115 7276.



INCMNSZ

**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 sucralosa vs placebo durante 30 días en adultos aparentemente sanos**

Instrucciones para la VISITA 4

1. No deben de modificarse los hábitos de alimentación y ejercicio que practica normalmente, tal y como los reflejó en los cuestionarios que se le aplicaron. Es decir, usted seguirá consumiendo los alimentos y realizando la actividad física que acostumbra, esto es muy importante para que no se alteren los resultados de la investigación.
2. Durante su participación en el estudio, no consuma productos que contenga edulcorantes no nutritivos (sustitutos de azúcar), como por ejemplo: refrescos o bebidas "light", gelatina, saborizantes de agua, yogurt "light", chicles, mermeladas sin azúcar, etc.
3. Recuerde traer completo en la próxima visita, el segundo registro de consumo de alimentos de tres días (dos días entre semana y un día en fin de semana) que se le proporcionó en la visita 3. Por favor, especifique todos los alimentos consumidos incluyendo bebidas e ingredientes como la grasa y el azúcar que se usó para la preparación de sus alimentos.
4. Deberá consumir 3 cápsulas del frasco que se le asignó durante 30 días aproximadamente, una cápsula en cada tiempo de comida principal (desayuno, comida y cena), 10 minutos antes de ingerir sus alimentos. No olvide registrar en el formato de consumo de cápsulas, la cantidad de cápsulas que se tomaron por día y si experimentó algún síntoma en relación a las mismas. En la próxima visita por favor regrese el frasco con las cápsulas que no haya consumido y el formato de consumo de cápsulas completo.
5. Se le proporcionará todo el material necesario para que usted recolecte una segunda muestra de heces que entregará en la siguiente visita tal y como lo hizo en la visita 3.
6. Se le pedirá una segunda muestra de orina, por lo que es necesario que vaya al baño en su casa al despertar y posteriormente consuma un vaso de agua (250 ml aproximadamente) antes de salir de su casa para poder proporcionarnos la muestra.

La fecha de su próxima visita es: \_\_\_\_\_

Se le pedirá que acuda a las 7:00 am a la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas (UIEM) de manera puntual, ya que el estudio que se le realizará (clamp) dura aproximadamente 9 horas y es necesario iniciar lo más pronto posible. Deberá asistir con un ayuno de 10 a 12 horas.

- a) Acudir con ropa cómoda.
- b) No consumir alcohol ni fumar por lo menos un día antes.
- c) Tratar de dormir lo suficiente (8 horas) la noche anterior.
- d) La noche previa a la visita, **realizar aproximadamente a las 8 pm, la misma cena que se le indicó un día antes del primer clamp.**

Cualquier duda comunicarse con el M.C. Alonso Romo al teléfono (449) 115 7276.



INCMNSZ

**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 sucralosa vs placebo durante 30 días en adultos aparentemente sanos**

Instrucciones para la VISITA 5

1. No deben modificarse los hábitos de alimentación y ejercicio que practica normalmente, tal y como los reflejó en los cuestionarios que se le aplicaron. Es decir, usted seguirá consumiendo los alimentos y realizando la actividad física que acostumbra, esto es muy importante para que no se alteren los resultados de la investigación.
2. Durante su participación en el estudio, no consuma productos que contenga edulcorantes no nutritivos (sustitutos de azúcar), como por ejemplo: refrescos o bebidas "light", gelatina, saborizantes de agua, yogur "light", chicles, mermeladas sin azúcar, etc.

La fecha de su próxima visita es: \_\_\_\_\_

Se le pedirá que acuda a las 8:00 am en el Departamento de Endocrinología y Metabolismo de manera puntual. Deberá asistir con un ayuno de 10 a 12 horas. Se llevará a cabo la segunda curva con duración de dos horas en donde se le proporcionará un desayuno y se le tomarán 5 muestras de sangre durante la curva. El tiempo total de la visita será de aproximadamente 3 horas.

- a) Acudir con ropa cómoda.
- b) No consumir alcohol ni fumar por lo menos un día antes.
- c) Tratar de dormir lo suficiente (8 horas) la noche anterior.

Cualquier duda comunicarse con el M.C. Alonso Romo al teléfono (449) 115 7276.



INCMNSZ

**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 sucralosa vs placebo durante 30 días en adultos aparentemente sanos**

Instrucciones para la VISITA 6

1. La visita 6 será la última del estudio y se llevará a cabo aproximadamente un mes después de la visita 5. Durante este mes no consumirá cápsulas o tendrá que realizar alguna acción en específico, sólo deberá de cuidar lo que se indica en los siguientes puntos.
2. No deben de modificarse los hábitos de alimentación y ejercicio que practica normalmente, tal y como los reflejó en los cuestionarios que se le aplicaron. Es decir, usted seguirá consumiendo los alimentos y realizando la actividad física que acostumbra, esto es muy importante para que no se alteren los resultados de la investigación.
3. Durante su participación en el estudio, no consuma productos que contenga edulcorantes no nutritivos (sustitutos de azúcar), como por ejemplo: refrescos o bebidas "light", gelatina, saborizantes de agua, yogurt "light", chicles, mermeladas sin azúcar, etc.
4. Recuerde traer completo en su última visita, el tercer registro de consumo de alimentos de tres días (dos días entre semana y un día en fin de semana) que se le proporcionó en la visita 5. Por favor, especifique todos los alimentos consumidos incluyendo bebidas e ingredientes como la grasa y el azúcar que se usó para la preparación de sus alimentos.

La fecha de su próxima visita es: \_\_\_\_\_

Se le pedirá que acuda a las 8:00 am en el Departamento de Endocrinología y Metabolismo de manera puntual. Deberá asistir con un ayuno de 10 a 12 horas. Se le tomará una muestra de sangre como evaluación final del protocolo de investigación y se le aplicará nuevamente el cuestionario de actividad física como en las visitas 1 y 4. La duración aproximada de la visita será de una hora.

- a) Acudir con ropa cómoda.
- b) No consumir alcohol ni fumar por lo menos un día antes.
- c) Tratar de dormir lo suficiente (8 horas) la noche anterior.

Finalmente, se le entregará una copia de todos los resultados de sus estudios y se le dará una explicación de estos.

Cualquier duda comunicarse con el M.C. Alonso Romo al teléfono (449) 115 7276

Anexo 6: Infografía para la recolección de muestras de heces

## RECOLECCIÓN DE MUESTRA DE HECES

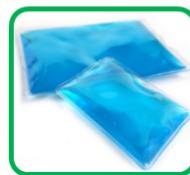


1. Lávese las manos con agua y jabón antes de iniciar la recolección de muestras de heces

2. Antes de evacuar, colocar un plato desechable sobre el agua dentro del escusado.

3. Realizar la evacuación. No se debe orinar en la muestra.

4. Colocarse los guantes y abrir el bote de recolección



5. Tomar parte de la muestra y colocarla dentro del bote de recolección. Cerrar adecuadamente.

6. Colocar los geles previamente congelados dentro de la hielera.

7. Poner el bote de recolección dentro de la hielera.

8. Dejar la hielera dentro del refrigerador hasta transportar la muestra.



INCMNSZ

## Anexo 7: Formato de apego a la intervención

Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas / Departamento de Endocrinología y Metabolismo

Protocolo de investigación: "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 sucralosa vs placebo durante 30 días en adultos aparentemente sanos".

Paciente: \_\_\_\_\_ Iniciales: \_\_\_\_\_

Folio Protocolo: \_\_\_\_\_ ID UIEM: \_\_\_\_\_ Total de cápsulas consumidas: \_\_\_\_\_

Instrucciones: marcar las casillas con ✓ o ✗ de acuerdo a si consumí o no la cápsula correspondiente a cada tiempo de comida en cada día.

Día	Cápsula Desayuno	Cápsula Comida	Cápsula Cena	¿Qué síntomas tuve?
#1 Fecha:				
#2 Fecha:				
#3 Fecha:				
#4 Fecha:				
#5 Fecha:				
#6 Fecha:				
#7 Fecha:				
#8 Fecha:				
#9 Fecha:				
#10 Fecha:				
#11 Fecha:				
#12 Fecha:				
#13 Fecha:				

Día	Cápsulas en desayuno	Cápsulas en comida	Cápsulas en cena	¿Qué síntomas tuve?
#14 Fecha:				
#15 Fecha:				
#16 Fecha:				
#17 Fecha:				
#18 Fecha:				
#19 Fecha:				
#20 Fecha:				
#21 Fecha:				
#22 Fecha:				
#23 Fecha:				
#24 Fecha:				
#25 Fecha:				
#26 Fecha:				
#27 Fecha:				
#28 Fecha:				
#29 Fecha:				
#30 Fecha:				