



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD

EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA

EFFECTOS DE LA INGESTA DE 3 TIPOS DIFERENTES DE
REFRESCO DE COLA EN LOS NIVELES DE GLUCOSA Y LA
RESPUESTA AGUDA ENTEROENDÓCRINA Y PANCREÁTICA EN
INDIVIDUOS ADULTOS SANOS. ENSAYO CLÍNICO
ALEATORIZADO CRUZADO

**TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS DE LA SALUD**

PRESENTA:

César Galicia Ayala

TUTORES

Dr. Miguel Klünder Klünder

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas
y de la Salud

Dra. América Liliana Miranda Lora

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Ciudad Universitaria, Ciudad de México. Octubre del 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Miembros del Comité Tutor

Dra. Erika Ileana Escalante Izeta

Universidad Iberoamericana

Dra. Marta Margarita Zapata Tarrés

Instituto Nacional de Pediatría

Dra. Patricia Elena Clark Peralta

Responsable del campo académico

RESUMEN

Introducción: El consumo de edulcorantes no nutritivos (ENN) ha ido en incremento en los últimos años, como una alternativa para sustituir los azúcares y disminuir la ingesta adicional de carbohidratos, con la idea de atenuar el riesgo de desarrollar obesidad, síndrome metabólico y diabetes. Sin embargo, los edulcorantes no solo no han probado ser una alternativa efectiva para el control de peso y disminución de alteraciones metabólicas, sino que además existe evidencia de que su ingesta crónica induce alteraciones endócrinas que pueden tener una contribución importante en el incremento de peso corporal. Pocos estudios han explorado los efectos agudos del consumo de bebidas con ENN sobre la respuesta endócrina, y a la fecha, la evidencia no ha sido consistente respecto a los efectos posteriores a la ingesta y los posibles riesgos a la salud.

Objetivo: Evaluar el efecto de 3 tipos diferentes de refresco de cola, comparados con agua mineral, sobre la glucosa, insulina, glucagon y hormonas reguladoras de apetito durante los primeros 120 minutos posteriores a la ingesta.

Metodología: Se realizó un ensayo clínico aleatorizado cruzado simple ciego en donde se incluyeron a 20 individuos adultos sanos (10 hombres y 10 mujeres). Con periodo de lavado de una semana y en ayuno de 8 horas, cada participante consumió 355ml de cada uno de los 3 diferentes refrescos (endulzados con: sacarosa, aspartame/acesulfame K, y sacarosa/stevia) y agua mineral. Posterior a la administración de cada una de las bebidas, se determinaron los niveles de glucosa, insulina, glucagon, GLP-1, GIP, PYY, leptina, polipéptido pancreático y ghrelina, previo a la ingesta de la bebida y posteriormente a los 30, 60, 90 y 120 minutos.

Análisis estadístico: Se realizó análisis descriptivo de las variables. Se estimó la respuesta global de la glucosa, insulina y las hormonas reguladoras del apetito y se obtuvo el Área Bajo la Curva (ABC) mediante un modelo trapezoidal y se analizó para cada variable de interés por ANOVA de un factor. Se realizó un ANOVA para medidas repetidas considerando el tratamiento y el tiempo como factores, y se realizaron comparaciones con el grupo de agua mineral como control mediante la prueba *t* de Student para muestras relacionadas, se considera valores de *p* inferiores a 0.05 como estadísticamente significativos.

Resultados: Posterior a la ingesta del refresco con aspartame / acesulfame K, se observó supresión en los niveles de glucagon, niveles inferiores de GIP comparados con el control, y un comportamiento opuesto al agua mineral en los niveles de ghrelina. Con respecto a la bebida endulzada con sacarosa / stevia, se observó un efecto hipoglucemiante estadísticamente significativo, acompañado de un incremento progresivo de polipéptido pancreático y supresión importante de la leptina.

Conclusiones: Las bebidas con los ENN aspartame, acesulfame K y stevia muestran un efecto metabólicamente activo, que modifica la secreción y liberación de hormonas reguladoras del apetito, y puede influir en la homeostasis de la glucosa. Es necesario evaluar en estudios longitudinales si el consumo crónico de este tipo de ENN puede afectar el perfil metabólico e incrementar el riesgo de obesidad y diabetes.

Contenido

1. ANTECEDENTES	7
1.1 INTRODUCCIÓN	7
1.2 ENN UTILIZADOS CON MAYOR FRECUENCIA EN LOS REFRESCOS DE COLA DE VENTA EN MÉXICO	9
1.2.1 Aspartame	9
1.2.2 Acesulfame Potásico.....	10
1.2.3 Stevia.....	10
1.3 EFECTO DE LOS ENN SOBRE LAS SENSACIONES DE APETITO Y SACIEDAD	11
1.4 EVIDENCIA SOBRE LOS EFECTOS AGUDOS DE LOS ENDULZANTES NO CALÓRICOS EN LA HOMEOSTASIS DE GLUCOSA Y LAS SENSACIONES DE APETITO Y SACIEDAD	12
Tabla 1. Hormonas que participan en el metabolismo energético.....	13
Tabla 2. Variables de desenlace incluidas en los estudios	14
Tabla 3. Tabla de evidencia de estudios que analizan los efectos agudos de ENN sin la administración simultánea o posterior de una carga energética	15
Tabla 4. Tabla de evidencia de estudios que analizan los efectos agudos de ENN con la administración simultánea o posterior de una carga energética	17
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
2.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	21
Figura 1. Modelo conceptual	21
3. JUSTIFICACIÓN	22
4. OBJETIVOS	23
4.1 OBJETIVO GENERAL	23
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
Figura 2. Diseño arquitectónico del estudio	23
5. HIPÓTESIS	24
6. METODOLOGÍA	25
6.1 CRITERIOS E INCLUSIÓN:.....	25
6.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	25
6.3 CRITERIOS PARA EL RETIRO ANTICIPADO DE LA MANIOBRA DE INTERVENCIÓN.....	26
6.4 PROCEDIMIENTOS.....	26
Figura 3. Diagrama de procedimientos realizados durante el estudio	27
Tabla 5. Información nutrimental de las presentaciones de refresco.....	29

Tabla 6. Aleatorización de los tratamientos	30
7. TAMAÑO DE MUESTRA.....	32
Tabla 7. Cálculo de tamaño de muestra.....	32
8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	33
9. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	34
Tabla 8. Operacionalización de las variables.....	34
10. RESULTADOS	36
10.1 CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	36
Figura 4. Diagrama de flujo de pacientes.....	37
Tabla 9. Características generales de los participantes.....	37
Tabla 10. Resultados de glucosa y hormonas reguladoras de apetito previo al consumo de los refrescos (T0).....	38
10.2 RESULTADOS DE GLUCOSA Y HORMONAS REGULADORAS DEL APETITO 38	
Figura 5. Comportamiento de glucosa durante 120 minutos, según el refresco consumido	38
Figura 6. Comportamiento de insulina durante 120 minutos, según el refresco consumido	39
Figura 7. Comportamiento de glucagon durante 120 minutos, según el refresco consumido	40
Figura 8. Comportamiento de GLP-1 durante 120 minutos, según el refresco consumido	41
Figura 9. Comportamiento de GIP durante 120 minutos, según el refresco consumido	42
Figura 10. Comportamiento de péptido YY durante 120 minutos, según el refresco consumido	42
Figura 11. Comportamiento de polipéptido pancreático durante 120 minutos, según el refresco consumido.....	43
Figura 12. Comportamiento de leptina durante 120 minutos, según el refresco consumido	44
Figura 13. Comportamiento de ghrelina durante 120 minutos, según el refresco consumido	44
11. DISCUSIÓN.....	45
11.1 REFRESCO ENDULZADO CON SACAROSA.....	46
11.2 REFRESCO ENDULZADO CON ASPARTAME / ACESULFAME K.....	47
Figura 14. Diferencias con respecto al basal (Δ) en glucosa, insulina y glucagon	48
Figura 15. Diferencias con respecto al basal (Δ) en GLP-1, GIP y péptido YY.....	49

11.3	REFRESCO ENDULZADO CON SACAROSA / STEVIA	51
	Figura 16. Diferencias con respecto al basal (Δ) en polipéptido pancreático, leptina y ghrelina.....	52
12.	DEBILIDADES Y FORTALEZAS	55
13.	CONCLUSIONES.....	56
14.	CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	57
15.	BIBLIOGRAFÍA.....	58
16.	ANEXOS.....	66
	Anexo 1. Consentimiento informado	66
	Anexo 2. Hoja de recolección de datos	67

1. ANTECEDENTES

1.1 INTRODUCCIÓN

La obesidad representa en la actualidad uno de los principales problemas de salud en el mundo. En México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del año 2016 reportó que el 75.6% de las mujeres y el 69.4% de los hombres, mayores de 20 años presentan sobrepeso u obesidad, lo que nos ubica como uno de los países con mayor prevalencia (1). Entre los principales factores que explican la magnitud del problema se encuentran la disminución significativa de actividad física y una transición nutricional en las últimas décadas, caracterizada por el abandono de las dietas tradicionales y la adopción de la dieta "occidental", que incluye productos ultra procesados con alto contenido de grasas y azúcares simples, entre los que destacan las bebidas azucaradas (2).

En México, el consumo de bebidas azucaradas es un fenómeno que ha despertado el interés de instituciones y asociaciones dedicadas al estudio del sobrepeso y obesidad. Según la Organización Mundial de la Salud y el Instituto Nacional de Salud Pública, México ocupa el primer lugar en consumo per cápita anual de refrescos en el mundo con 163 litros, superando a los Estados Unidos con 118, lo que representa 7.3 veces el consumo promedio mundial (3). El consumo de bebidas azucaradas constituye un aporte adicional de carbohidratos simples, que, al representar un excedente de los requerimientos energéticos, impide la utilización de grasa corporal como fuente de energía, lo cual contribuye al desequilibrio energético y favorece la aparición de sobrepeso y obesidad. El refresco tiene como componente principal carbohidratos, siendo los de mayor utilización el jarabe de maíz de alta fructosa y la sacarosa. El monosacárido fructosa es típicamente consumido junto con la sacarosa hasta en un 50% o como jarabe de maíz de alta fructosa hasta en un 55%. Cuando la fructosa entra al organismo, una pequeña porción es convertida en ácido láctico y liberada a la circulación portal, y otra pequeña porción podría convertirse en glucosa. Sin embargo, la mayoría es

depositada en la circulación portal y enviada al hígado, donde es rápidamente metabolizada a fructosa-1-fosfato por efecto de la fructocinasa, a través de un proceso insulino dependiente. En el músculo, la fructosa es metabolizada en fructosa-6-fosfato, por efecto de la hexocinasa. Como consecuencia del metabolismo de ambas enzimas, se modifica la ruta glucolítica y se generan sustratos lipogénicos, alterando el metabolismo de la glucosa y dando lugar a la elevación de triglicéridos postprandiales (4,5), lo cual explica no solo el papel de los carbohidratos simples en el desarrollo de obesidad y diabetes mellitus (DM), sino además en padecimientos cardiovasculares.

El impacto del consumo de bebidas azucaradas en la salud metabólica ha sido debidamente documentado. El consumo de 334ml por día se asocia con un riesgo relativo (RR) de 1.20 para desarrollar obesidad (6), de 1.83 para desarrollar DM (7) y un riesgo 44% mayor para desarrollar síndrome metabólico (SM) (8). En este sentido, se ha considerado que el consumo de bebidas que contienen sustitutos artificiales del azúcar, conocidos como edulcorantes no nutritivos (ENN) o edulcorantes no calóricos (ENC) podría suponer menores riesgos a la salud entre los consumidores de refresco al carecer de los carbohidratos simples asociados con obesidad y DM. Sin embargo, se ha observado que el riesgo para desarrollar SM es similar entre los consumidores de refrescos con ENC que el identificado en consumidores de refresco regular, es decir, con endulzante calórico (9). Adicionalmente se ha identificado que los consumidores de ENN muestran un incremento de peso 47% mayor, comparado con los no consumidores (10), por lo que no puede afirmarse que los ENN son más seguros que los endulzantes calóricos.

Los ENN son sustancias químicas procesadas industrialmente que producen sabor dulce a concentraciones mucho menores que los edulcorantes nutritivos. Las bebidas conocidas como bebidas “de dieta” o “bebidas light” utilizan uno o más de estos edulcorantes en lugar de azúcares como la sacarosa o el jarabe de maíz de alta fructosa, con el propósito de disminuir su aporte de calorías (5). Los ENN

comúnmente utilizados en estas bebidas son: aspartame, acesulfame K, sucralosa y glucósidos de esteviol (Stevia). Su consumo está autorizado por la Food and Drug Administration (FDA por sus siglas en inglés) y en México por la Comisión Federal Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), y representan una fracción importante de las ventas de refrescos a nivel nacional e internacional.

1.2 ENN UTILIZADOS CON MAYOR FRECUENCIA EN LOS REFRESCOS DE COLA DE VENTA EN MÉXICO

A continuación, se describen los edulcorantes comúnmente utilizados por la industria refresquera en México.

1.2.1 Aspartame

Edulcorante sintético no calórico que es elaborado a partir de un éster metilado de fenilalanina y ácido aspártico. Se metaboliza en el intestino delgado por la acción de enterasas y peptidasas. Se hidroliza en metanol, ácido aspártico y fenilalanina. Su metabolismo aporta hasta 4 kcal/gr y es 160 a 220 veces más dulce que la sacarosa. Su uso está aprobado por la FDA desde 1981 en compuestos específicos, y a partir de 1983 es autorizado en bebidas carbonatadas (11). En México, se autoriza su consumo a partir de 1994. La ingesta diaria admisible (IDA) es de 40mg/kg (12) y en pruebas de seguridad (13,14) no se observan efectos teratogénicos, carcinogénicos, mutagénicos y toxicológicos significativos, aun cuando su consumo es superior a la IDA. El contenido en los refrescos de cola varía entre 16.9 y 40 mg/100ml (15), por lo que el contenido de una lata de 355ml corresponde entre el 2.3 y el 5% de la ingesta máxima recomendada al día para un adulto de 60 kg.

1.2.2 Acesulfame Potásico

Edulcorante no calórico sintético que generalmente se utiliza combinado con otros edulcorantes debido a su capacidad de incrementar el dulzor y disminuir el sabor amargo. El edulcorante es completamente absorbido y metabolizado en el intestino delgado y se excreta rápidamente por vía renal. Su vida media es de 1.5 horas, lo que indica que el lapso de exposición a la sustancia es breve y no se observa acumulación. La IDA es de 15 mg/kg (12) y se ha reportado que las pruebas de seguridad no muestran toxicidad ni mutagenicidad (16). El contenido de este compuesto en los refrescos de cola varía entre 10.6 y 18.1 mg/100ml (15), por lo que el contenido de una lata de 355 ml corresponde entre el 3.9 y el 6.6% de la ingesta máxima recomendada para un adulto de 60 kg.

1.2.3 Stevia

Se obtiene por la cocción y el machacamiento de las hojas de la hierba *Stevia Rebaudiana*, lo que permite obtener un extracto que contiene glucósidos de esteviol o esteviósidos. Un porcentaje de los esteviósidos que se ingieren es degradado en el intestino a esteviol y el resto es metabolizado por la microbiota intestinal. Stevia tiene un sabor 30 a 45 veces más dulce que la sacarosa, pero el producto comercial puede llegar a ser 250 a 300 veces más dulce que la azúcar refinada y solo aporta 0.2 Kcal/gr. El compuesto se encuentra aprobado por la FDA sólo como compuesto procesado, y en México se autoriza su consumo a partir del 2012 (17). La IDA es de 4 mg/kg. Los estudios realizados no han demostrado asociación entre su consumo y la generación de teratogénesis o el desarrollo de neoplasias, modificaciones metabólicas, neurotoxicidad, reacciones alérgicas, modificaciones en el control del apetito en forma constante, modificaciones cuantitativas o cualitativas en la ingestión de alimentos, modificaciones en el control

y balance hídrico y de electrolitos, trastornos de la termogénesis, ni modificaciones en la composición corporal, cuando se mantiene el peso (12). Los refrescos que utilizan esta sustancia tienen una concentración de 4.4 mg/100mL (15), por lo que una lata de refresco contiene aproximadamente 6.5% de la ingesta máxima recomendada al día para un adulto de 60 kg.

1.3 EFECTO DE LOS ENN SOBRE LAS SENSACIONES DE APETITO Y SACIEDAD

Anteriormente se creía que los ENN eran metabólicamente inertes. Sin embargo, evidencia reciente muestra que este tipo de sustancias desempeñan un papel metabólico activo dentro del tracto gastrointestinal a través del estímulo de receptores linguales e intestinales. Existe evidencia en modelos animales que apunta a un vínculo entre los ENN y desordenes metabólicos, ganancia de peso, incremento de la ingesta y acumulación de grasa corporal. Dichos resultados orientan a la posibilidad de que exista una disociación entre los estímulos dulces y las respuestas fisiológicas que contribuyen al balance energético, lo que disminuiría el papel de la fase cefálica en la regulación del apetito y la ingesta (5). Con respecto a la percepción de sabor dulce en humanos, se ha observado una correlación negativa entre el consumo previo de ENN y la activación a nivel de la amígdala posterior a la ingestión de sacarosa (18). Se ha observado, además, que la sucralosa activa las mismas áreas cerebrales que la sacarosa, a excepción de las áreas dopaminérgicas relacionadas con el placer (19). De manera similar, se ha observado que los consumidores de ENN muestran menor activación del núcleo caudado a mayor consumo de edulcorantes, además de no observarse diferencias en la activación cerebral al ingerir un ENN y sacarosa, mientras que, quienes no consumen habitualmente edulcorantes, muestran una activación mayor en la corteza orbito frontal posterior al ENN, comparado con la sacarosa (20). Dichos hallazgos apoyan la hipótesis de que el consumo de ENN podría modificar la respuesta cerebral relacionada con el sabor dulce y, en consecuencia, influir en el comportamiento alimentario. La respuesta durante la fase cefálica tiene la función

de preparar al tracto gastrointestinal para la óptima ingestión y absorción de los nutrientes, minimizar las alteraciones del medio interno e inducir saciedad para contribuir al equilibrio energético (21) y es muy probable que la alteración de dicho proceso derivado del consumo de ENN juegue un papel importante en el desarrollo de obesidad, DM y SM. Sin embargo, no es el único mecanismo que se ha explorado para dar explicación al fenómeno.

La ingesta de alimentos activa respuestas endocrinas al paso por el tubo digestivo, lo cual desencadena la secreción de hormonas que tienen efectos en la regulación del apetito, saciedad y metabolismo energético. Entre estas sustancias se encuentran: gastrina, ghrelina, obestatina, nesfatina-1, somatostatina, colecistoquinina, péptido tirosina tirosina, insulina, glucagon, secretina, leptina, motilina, péptido inhibidor gástrico, GLP-1, polipéptido pancreático, entre otras (22). En la tabla 1 se describen algunas de estas hormonas.

1.4 EVIDENCIA SOBRE LOS EFECTOS AGUDOS DE LOS ENDULZANTES NO CALÓRICOS EN LA HOMEOSTASIS DE GLUCOSA Y LAS SENSACIONES DE APETITO Y SACIEDAD

Existe un amplio grupo de estudios que han explorado los efectos de los ENN sobre el metabolismo de la glucosa y la respuesta hormonal durante las primeras horas posteriores a su consumo, en su mayoría ensayos clínicos aleatorizados cruzados en los que se incluyen adultos sanos, con sobrepeso, obesidad o diabetes. La mayoría de los estudios se enfoca en los ENN de mayor consumo, como sucralosa, aspartame, acesulfame, stevia, aunque algunos también incluyen ciclamato, sacarina, fruta de monje, estos últimos de menor utilización. Aunque todos los estudios miden los niveles de glucosa, y la mayoría mide insulina, las hormonas incluidas en la mayoría de los estudios son muy variables (tabla 2).

Tabla 1. Hormonas que participan en el metabolismo energético

Hormona	Dónde se produce	Factores que la liberan	Factores que la suprimen	Efectos metabólicos
Insulina (21,23–26)	Células beta del páncreas	Elevación de la glucemia, ácidos grasos libres, aminoácidos, hormonas gastrointestinales	Disminución de glucemia, ayuno, somatostatina, actividad alfa adrenérgica, leptina	Disminuye las concentraciones de glucosa en sangre, estimula la glucogenogénesis, inhibe la glucogenólisis, disminuye la secreción hepática de glucosa, promueve la glucólisis y favorece la síntesis de triglicéridos y proteínas,
Glucagon (21,25,27,28)	Células alfa del páncreas	Disminución de glucemia, ayuno	Hiper glucemia, insulina	Eleva la glucosa sanguínea mediante la glucogenólisis y gluconeogénesis. Reduce la ingesta y promueve el gasto energético Contrarresta la fase cefálica de liberación de insulina.
Polipéptido pancreático (PP) (21,25,29,30)	Células PP pancreáticas	Secretina, colecistocinina, alimento (proteínas) y agua e hipoglucemia por insulina	Atropina, hiperglicemia	Regula la secreción pancreática endocrina y exocrina, retrasa el vaciamiento gástrico, efecto anorexigénico
Ghrelin (21,22,31)	Células P y D1 gástricas	Ayuno	Ingesta de carbohidratos y lípidos, PYY	Efecto orexigénico
Péptido inhibidor gástrico (GIP) (22,32–35)	Células K del intestino delgado proximal	Carbohidratos, ácidos grasos, proteínas	Se inactiva por la dipeptidil peptidasa 4	Potencia la secreción de insulina, estimula la proliferación de la célula beta, inhibe el vaciamiento gástrico, la secreción de glucagon y la ingesta, reduce de actividad de lipoprotein- lipasa en tejido adiposo
Péptido similar a glucagon tipo 1 (GLP-1) (22,34–38)	Células L del intestino delgado distal e intestino grueso	Carbohidratos especialmente monosacáridos, lípidos y el ejercicio	Insulina, somatostatina, el neuropéptido galanina	Reducción de la ingesta energética, disminución de la secreción de ácido y vaciamiento gástrico, induce la proliferación celular pancreática, secreción de GIP y supresión de la secreción de glucagon y tiene efecto anorexigénico
Leptina (21,39–41)	Adipocitos	Incremento del tejido adiposo, insulina, corticoesteroides, factor de necrosis tumoral alfa y estrógenos	Andrógenos, hormona de crecimiento, catecolaminas, ácidos grasos libres	Incrementa la síntesis de péptidos anorexigénicos y disminuye la de orexigénicos, regula secreción de insulina, retrasa vaciamiento gástrico y participa en la secreción pancreática mediada por colecistocinina, anorexigénico.
Péptido YY (22,25,42,43)	Células L del intestino delgado distal y grueso	Ingesta de alimentos, dieta baja en carbohidratos	Hormona de crecimiento	Reduce vaciamiento gástrico y tránsito intestinal, incrementa absorción de agua y electrolitos, anorexigénico,

En su mayoría, los estudios utilizan la vía oral para la administración de los componentes, y solo un grupo pequeño de estudios utiliza las vías intraduodenal o intragástrica con la finalidad de evitar la fase cefálica. con respecto al tiempo de observación, van desde 30 hasta 300 minutos posterior al consumo de los agentes analizados, con mediciones a intervalos de 15 o 30 minutos y en la mayoría de los estudios se utiliza la presentación de bebida, cumpliendo periodos de lavado que van desde los 2 hasta 14 días entre cada tratamiento utilizado. Cabe destacar que los estudios pueden clasificarse en 2 grupos: aquellos en los que se analizó la glucosa y la respuesta hormonal aguda posterior a la administración de los ENN por sí solos, y otros en los que se administró el ENN más una carga energética, ya sea en forma de comida, bebida o solución. A continuación, se presentan las mediciones incluidas en 22 estudios revisados.

Tabla 2. Variables de desenlace incluidas en los estudios

Autor, País, año	gluc	ins	pepC	gluca	GLP	GIP	PYY	ghrel	PP	lept	EVA	adlib	VG
Okuno G, Japón, 1986	X	X		X									
Horwitz D. EUA. 1988	X	X		X									
Hartel B. Alemania. 1993	X	X											
Mezitis N. EUA. 1996	X		X										
Hall WL. Reino Unido. 2003	X	X			X	X							X
Gregersen S. Dinamarca. 2004	X	X		X	X	X							
Ma J. Australia. 2009	X	X			X	X							
Brown R. EUA. 2009	X	X			X								
Ma J. Australia. 2010	X				X								
Anton S. EUA. 2010	X	X									X	X	
Steinert R. Suiza. 2011	X	X		X	X		X	X			X		
Ford HE. Reino Unido. 2011	X	X			X		X				X	X	
Brown A. EUA. 2011	X	X		X							X		
Maersk M. Dinamarca. 2012	X	X			X	X		X			X	X	
Brown R. EUA. 2012	X		X		X	X	X						
Wu T. EUA. 2012	X	X			X	X					X		X
Pepino Y. EUA. 2013	X	X	X	X	X	X							
Olalde-Mendoza. México, 2013	X												
Bryant C. EUA. 2014	X										X		
Temiskan S. Turquía, 2014	X	X	X		X								
Pallarés A. España. 2015	X												
Tey SL. Singapur. 2017	X	X									X	X	

*gluc. Glucosa. ins. Insulina. pepC. Péptido C. gluca. Glucagon. GLP. GLP-1. PYY. Péptido YY. ghrel. Ghrelina. PP. Polipéptido pancreático. lept. Leptina. EVA. Escala visual análoga de apetito y saciedad. adlib. Ingesta ad libitum. VG. Vaciamiento gástrico.

Tabla 3. Tabla de evidencia de estudios que analizan los efectos agudos de ENN sin la administración simultánea o posterior de una carga energética

Estudios	Sujetos	Intervención	Resultados
Steinert R. Suiza. 2011 (44)	Ensayo clínico cruzado, doble ciego 12 sujetos sanos Edad 23.3 ± 0.7 6M, 6H	Infusión intragástrica en 250ml de 6 diferentes tratamientos: <ul style="list-style-type: none"> • agua • glucosa (50g) • fructosa (25g) • aspartame (169mg) • acesulfame k (220mg) • sucralosa (62mg) Glucosa, insulina, glucagón, GLP-1, PYY y ghrelina fueron medidas en los minutos -15, 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 75, 90, 105, 120.	No se observaron diferencias significativas entre ninguno de los ENN y el agua en las concentraciones de glucosa, insulina, glucagón, GLP-1, PYY y ghrelina. La fructosa mostró respuesta en GLP-1 y en glucosa.
Ford HE. Reino Unido. 2011 (45)	Ensayo clínico cruzado, simple ciego 8 sujetos sanos Edad 22-27 7M, 1H	50ml VO de 4 diferentes tratamientos, seguida de una estimulación oral (EO) <ul style="list-style-type: none"> • Agua + EO agua • Agua + EO sucralosa • Sucralosa 0.083% + EO agua • Maltodextrina (MD) + EO MD Glucosa, insulina, GLP-1 y PYY fueron medidas en los minutos -15, 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120. 2 horas después, se les ofreció una comida buffet	No se observaron diferencias significativas en el área bajo la curva (ABC) de ninguna de las mediciones de apetito, saciedad o ingesta energética. La MD mostró diferencias estadísticamente significativas con el resto de los tratamientos en glucosa e insulina y no mostró diferencias en el comportamiento hormonal.
Maersk M. Dinamarca. 2012 (46)	Ensayo clínico cruzado 24 sujetos con sobrepeso y obesidad Edad 33.5 ± 9.2 12M, 12H	500ml VO de 4 diferentes tratamientos: <ul style="list-style-type: none"> • Refresco de cola con sacarosa (53g) • Leche semidescremada • Refresco de cola aspartame • Agua mineral Glucosa, insulina, GLP, GIP y Ghrelina. Fueron medidas a los minutos: 0, 30, 60, 90, 120, 180, 240. 4 horas después de los tratamientos, se midió ingesta ad libitum	La ghrelina se observó 20% más baja en el refresco endulzado con sacarosa comparado con el agua. La respuesta de GLP-1 fue 31% (IC95% 20-44) superior en la leche que en el refresco con sacarosa. Se observó un ABC de GIP superior en leche y refresco con sacarosa comparadas con agua y refresco de dieta. En el caso de la leche, fue 45% (IC95% 23-72) superior a la respuesta de sacarosa. No se observaron diferencias significativas entre el aspartame y el agua mineral en ninguna de las variables.
Ma J. Australia. 2009 (31)	Ensayo clínico cruzado simple ciego 7 sujetos sanos Edad 24 ± 2 Sexo no especificado	Infusión intragástrica de 500ml de 4 diferentes tratamientos: <ul style="list-style-type: none"> • sacarosa 50g en agua • sucralosa 80mg en sol. salina • de sucralosa 800mg en sol. salina • Sol. salina (control) Glucosa, insulina, GLP-1, GIP fueron medidas a los minutos -3, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180 y 240.	Incremento significativo de GLP-1 y GIP posterior a la sacarosa. No se observaron diferencias en los tratamientos de sucralosa y la solución salina en el vaciamiento gástrico, los niveles de glucosa ni en la respuesta hormonal.
Olalde-Mendoza. México, 2013 (47)	Ensayo clínico aleatorizado 80 adultos con DM2 Edad 30-65 Mujeres 78.8%	200ml VO de 2 tratamientos: <ul style="list-style-type: none"> • refresco con aspartame y acesulfame K (40mg/100g) • refresco con sacarosa (20.84g) Se midió glucosa capilar a los minutos 0, 10, 15 y 30. Los participantes se abstuvieron de su tratamiento el día del estudio	En el grupo de aspartame / acesulfame K se observó diferencia significativa entre la glucosa en ayuno y la glucosa a los 30 minutos ($\Delta = -5.27$ mg/dl; -3.82%). En el grupo de sacarosa se observaron diferencias significativas ($\Delta = 43.57$ mg/dl; 29.72%).

Horwitz D. EUA. 1988 (48)	<p>Ensayo clínico cruzado</p> <p>12 mujeres sanas Edad 28 ± 8</p> <p>10 con DM2 Edad 57 ± 8 5H, 5M</p>	<p>300 ml VO de 3 diferentes tratamientos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • bebida no endulzada • bebida con aspartame 400mg • bebida con sacarina 135mg <p>Glucosa, insulina y glucagon fueron medidos previo a la ingesta de las bebidas y a los 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150 y 180 minutos posteriores. Se permitió que los sujetos consumieran agua durante el estudio.</p>	<p>Se observó una diferencia estadísticamente significativa en el ABC de insulina en el grupo de sujetos sanos (aspartame 1345 ±107, diferente de la bebida no endulzada: p<0.05, diferente de la sacarina: p<0.01). No se observaron diferencias significativas en el ABC de glucosa y glucagon.</p>
Okuno G, Japón, 1986 (49)	<p>Ensayo clínico cruzado</p> <p>7 Sujetos sanos Edad 46.7 (31-60)</p> <p>22 con DM2 Edad no especificada clasificados de acuerdo a su glucosa en ayuno: D1<139mg/dl D2 140-199mg/dl D3 >200mg/dl</p>	<p>Se administraron 2 tratamientos VO:</p> <ul style="list-style-type: none"> • glucosa 100g • aspartame 500mg <p>Glucosa, insulina y glucagon fueron medidos en los minutos: 0, 30, 60, 120 y 180. No se especifica el volumen de los tratamientos</p>	<p>Se observó una media de disminución en la concentración de glucosa 3 horas después del aspartame fue de 7mg/dl en los sujetos sanos, 14mg/dl en D1, 28mg/dl en los D2 y 27mg/dl en los D3. No se observaron diferencias significativas en Insulina y glucagon.</p>
Hartel B. Alemania. 1993 (50)	<p>Ensayo clínico cruzado</p> <p>14 sujetos sanos Edad 19-52 8M 6H</p>	<p>VO 330ml con:</p> <ul style="list-style-type: none"> • aspartame 165mg • acesulfame K 165mg • ciclamato 800mg • sacarina 75mg • sacarosa 33g • agua (control) <p>Glucosa e insulina se midieron a los 0, 5, 10, 15, 30, 60 y 120 minutos.</p>	<p>Se observaron diferencias significativas entre la bebida de sacarosa y las bebidas endulzadas con ENN y el agua. No se observaron diferencias significativas entre ninguno de los edulcorantes y el agua ni en glucosa ni en insulina.</p>
Gregersen S. Dinamarca. 2004 (51)	<p>Ensayo clínico cruzado, pareado</p> <p>12 sujetos con DM2 Edad 65.8 ± 1.6 4M, 8H</p>	<p>Comida estandarizada junto con una cápsula de gelatina que contenía:</p> <ul style="list-style-type: none"> • estevióside 1g • almidón de maíz 1g (placebo) <p>Glucosa, insulina, glucagón, triglicéridos, ácido grasos libres, colesterol total, LDL, HDL, GLP-1, GIP, hemoglobina glicada, Na, K, creatinina y hemoglobina. Fueron medidos en los minutos: -30, 0, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180 y 240.</p>	<p>El estevióside redujo la respuesta en la glucosa postprandial en un 18 ± 5% (p<0.02) y los niveles de glucagon (p<0.021), comparado con el placebo. No se observaron diferencias significativas en insulina, GLP-1 y GIP.</p>
Pallarés A. España. 2015 (52)	<p>Ensayo clínico aleatorizado cruzado, doble ciego</p> <p>113 sujetos con DM2 Edad 52.3 ± 11.6 80M, 34H</p>	<p>Los pacientes ingirieron una porción de té verde (9g) endulzado con:</p> <ul style="list-style-type: none"> • hojas de stevia 4g • azúcar 10g <p>Glicemia capilar, frecuencia cardiaca, y presión arterial. Determinadas a los 0, 30, 60, 120 y 240 minutos.</p>	<p>Se observó una reducción de 35.8% (IC95% 27.0-44.6) posterior a la ingesta de stevia. Los niveles de glucosa al minuto 120 fueron significativamente inferiores en el grupo de stevia comparado con sacarosa (p<0.0001).</p>

Tabla 4. Tabla de evidencia de estudios que analizan los efectos agudos de ENN con la administración simultánea o posterior de una carga energética

	Sujetos	Intervención	Resultados
Mezitis N. EUA. 1996 (53)	<p>Ensayo clínico cruzado doble ciego</p> <p>13 pacientes con DM1 Edad 37.8 ± 2.6</p> <p>13 con DM2 Edad 54.3 ± 1.7</p> <p>Mujeres ~40% en ambos grupos</p>	<p>Se administraron 2 tratamientos VO a través de una cápsula:</p> <ul style="list-style-type: none"> • sucralosa 1g • celulosa 1g (placebo) <p>Posteriormente se ofreció un desayuno líquido estandarizado de 360kcal (ENSURE). Glucosa y péptido C fueron medidas en los minutos: 30, 60, 90, 120, 180, y 240.</p>	<p>No se observaron diferencias significativas en las ABC de glucosa y péptido C entre la sucralosa y el placebo</p>
Bryant C. EUA. 2014 (54)	<p>Ensayo clínico cruzado</p> <p>10 sujetos sanos Edad 21 ± 2.4 6 M, 4 H</p>	<p>250ml VO de 4 diferentes tratamientos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • glucosa 45g • glucosa 45g y aspartame 150mg • glucosa 45g y sacarina 20mg • glucosa 45g y acesulfame K 85mg <p>Glucosa fue medida en los minutos: 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60.</p>	<p>El AUC de glucosa mostró una respuesta glicémica 17.4% mayor posterior al Acesulfame K comparado con glucosa, mientras que el aspartame mostró una respuesta glicémica 17.8% más baja que la glucosa. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, ni en la glucosa ni en los puntajes de apetito y saciedad.</p>
Brown A. EUA. 2011 (55)	<p>Ensayo clínico cruzado</p> <p>8 mujeres sanas edad 21.75 ± 2.25.</p>	<p>355ml VO de 4 diferentes tratamientos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • agua • sacarosa 50g • sucralosa 6g • sacarosa 50g y sucralosa 6g <p>60 minutos después de la administración de los tratamientos, se ofreció un desayuno de 500kcal estandarizado, con 15 minutos para su ingesta. Glucosa, insulina, glucagon y ghrelina acilada se analizaron a los minutos 0, 60 y 120.</p>	<p>Los tratamientos que contenían sacarosa reflejaron niveles de insulina más altos comparados con los tratamientos sin sacarosa previo al desayuno. Las concentraciones posteriores al desayuno no fueron significativamente distintas entre los tratamientos. Se observaron diferencias significativas en la insulina, glucosa y ghrelina acilada a través del tiempo solo entre los tratamientos con sacarosa en comparación con los tratamientos sin sacarosa.</p>
Temizkan S. Turquía, 2014 (56)	<p>Ensayo clínico cruzado, simple ciego</p> <p>8 pacientes recientemente diagnosticados con DM2 Edad 51.5 ± 9.2 4M, 4H</p> <p>8 sujetos sanos Edad 45 ± 4.1 4M, 4H</p>	<p>200ml VO:</p> <ul style="list-style-type: none"> • aspartame 72mg • sucralosa 24mg • agua <p>15 minutos después, los sujetos fueron sometidos a una prueba oral de tolerancia a la glucosa (OGTT: 75g). Glucosa, insulina, péptido c y GLP-1 Medidos en los minutos 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 minutos.</p>	<p>En los individuos sanos, El ABC de glucosa ($p=0.002$) fue significativamente más baja en la sucralosa comparada con el agua. El ABC de GLP-1 fue significativamente mayor posterior a la sucralosa comparada con el agua ($P=0.04$), aunque en el aspartame comparado con el agua no mostró diferencias.</p>

Brown R. EUA. 2009 (57)	<p>Ensayo clínico cruzado, dos brazos</p> <p>22 sujetos sanos Edad 18.5 ± 4.2 12M, 10H</p>	<p>240ml VO:</p> <ul style="list-style-type: none"> refresco de cola con sucralosa y acesulfame K agua mineral <p>10 minutos después, los sujetos fueron sometidos a una prueba de tolerancia a la glucosa (OGTT: 75g) Glucosa, insulina y GLP-1 se midieron a los 0, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos.</p>	<p>No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las ABC de glucosa e insulina. El ABC de GLP-1 fue significativamente más alta posterior al refresco con sucralosa / aspartame, comparado con el agua mineral (p=0.003). Adicionalmente, el pico de GLP-1 fue significativamente más alto con el refresco con edulcorantes, comparado con el agua mineral (P=0.003) y el tiempo del pico no se vio modificado.</p>
Brown R. EUA. 2012 (58)	<p>Ensayo clínico cruzado</p> <p>25 sujetos sanos Edad 18.8 ± 4.4 48% M</p> <p>9 con DM1 Edad 18.2 ± 3.4 67% M</p> <p>10 con DM2 Edad 17.9 ± 3.3 90% M</p>	<p>240ml VO de 2 tratamientos:</p> <ul style="list-style-type: none"> refresco de cola con sucralosa 190µg/ml y acesulfame K 108µg/ml agua mineral <p>10 minutos después, los sujetos fueron sometidos a una prueba de tolerancia a la glucosa (OGTT: 75g) Glucosa, péptido C, GLP-1, GIP y PYY fueron analizados en los minutos -10, -5, 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120, 150 y 180.</p>	<p>Se observó un ABC de GLP-1 (no ajustada) 34% más grande en el refresco de dieta comparado con el agua mineral en el grupo de sujetos sanos (p=0.029) y 43% más alta en los pacientes con DM1 (p=0.001). No se observaron diferencias significativas para GLP-1 en el grupo de DM2. No se observaron diferencias significativas en la glucosa, péptido C, GIP y PYY.</p>
Ma J. Australia. 2010 (59)	<p>Ensayo clínico cruzado, simple ciego</p> <p>10 sujetos sanos Edad 27 ± 2 2M, 8H</p>	<p>Infusión intraduodenal de 600ml en 150 minutos (4ml/min) de:</p> <ul style="list-style-type: none"> Sucralosa 4mM en solución salina Solución salina <p>Después de 30min de iniciada la primera infusión, se co-infundió glucosa 25% o 3-O Metilglucosa al 2.5% en 120 min. Glucosa, GLP-1 y 3-O MG fueron determinadas en los minutos: -30, 0, 30, 60, 90 y 120.</p>	<p>No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de glucosa, GLP-1 y 3-OMG séricos en el tiempo total entre los 2 tratamientos.</p>
Anton S. EUA. 2010 (60)	<p>Ensayo clínico cruzado simple ciego</p> <p>31 sujetos: 19 sanos y 12 con obesidad Edad 27.6 ± 7.7 No especifica proporción por sexo</p>	<p>Posterior a un desayuno estandarizado de 469kcal los sujetos recibieron una colación de 400g con 3 diferentes tratamientos:</p> <ul style="list-style-type: none"> Stevia Aspartame Sacarosa <p>20 minutos después se les ofreció una comida, y durante la noche una cena ad libitum. Glucosa e insulina fueron medidos antes y 30, 60 y 120 minutos posteriores a la comida de prueba.</p>	<p>Se observaron niveles significativamente bajos en la glucosa posterior al tratamiento con stevia en comparación con la sacarosa (p>0.01). También se observó una disminución de la glucosa postprandial posterior al stevia comparado con el aspartame 20 minutos después del tratamiento, 30 y 60 minutos después de la comida de prueba. Se observó el mismo efecto en el aspartame comparado con sacarosa en el minuto 20 post-tratamiento. Los niveles de insulina fueron significativamente menores, posterior al stevia, comparado con aspartame y sacarosa. Específicamente, a los 30 y 60 minutos post-comida (stevia vs aspartame). En el caso de stevia-sacarosa, las diferencias se observaron solo a los 20 minutos.</p>

Wu T. EUA. 2012 (61)	<p>Ensayo clínico cruzado simple ciego</p> <p>10 sujetos sanos Edad 28.8 ± 4.0 3M, 7H</p>	<p>400ml VO con 4 diferentes tratamientos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • glucosa 40g • 3-O metilglucosa 40g • tagatosa 40g • sucralosa 60mg <p>15 minutos después, recibieron un refrigerio: 65g papa en polvo, 20g glucosa, 200ml agua y una yema de huevo.</p> <p>Glucosa, insulina, GLP-1, GIP fueron medidas a los -10, 0, 15, 30, 60, 90, 120 y 240 minutos.</p>	<p>No se observaron diferencias significativas en glucosa, insulina, GLP-1 y GIP entre sucralosa comparado con tagatosa y agua.</p>
Hall WL. Reino Unido. 2003 (62)	<p>Ensayo clínico cruzado</p> <p>6 adultos sanos Edad 27.7 ± 2.9 4M, 2H</p>	<p>450ml de agua con 1.5g de paracetamol más una cápsula con 3 diferentes tratamientos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • flúor 400mg (control) • aspartame 400mg • fenilalanina 225mg y ácido aspártico 176mg <p>1 hora después, se les ofreció una bebida (1991kj/450ml)</p> <p>Glucosa, insulina, Colecistoquinina, GLP-1, GIP y vaciamiento gástrico fueron medidas a los 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 minutos.</p>	<p>Tanto el aspartame como el compuesto de aminoácidos suprimieron el incremento de GLP-1 inducido por la dieta líquida, observado en el grupo control. No hubo diferencias significativas entre las respuestas de colecistoquinina, GIP e insulina entre ninguno de los tratamientos.</p>
Pepino Y. EUA. 2013 (63)	<p>Ensayo clínico cruzado</p> <p>17 sujetos con obesidad, sensibles a la insulina. Edad 35.1 ± 1 15M, 2H</p>	<p>60ml VO de 2 tratamientos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sucralosa 48mg • Agua <p>Glucosa, insulina, glucagon, péptido C, GLP-1 y GIP fueron medidas a los -20, -15, -10, -6, -2, 10, 20, 30, 40, 60, 90, 120, 150, 180, 240 y 300 minutos.</p>	<p>Se observó un ABC de insulina 20 DE 8% mayor comparada con el agua (p<0.03), una tasa de secreción de insulina 22 ± 7% mayor (p<0.02) una disminución de 7 ± 4% del aclaramiento de la insulina (p=0.04) y una disminución del 23 ± 20% de la sensibilidad a la insulina. No se observaron diferencias significativas entre la sucralosa y el agua glucosa, glucagon, GLP-1 o GIP.</p>
Tey SL. Singapur. 2017 (64)	<p>Ensayo clínico cruzado aleatorizado</p> <p>30 hombres sanos Edad 27.6 ± 5.5</p>	<p>Posterior a un desayuno estandarizado se proporcionó una bebida de 500ml con 4 tratamientos diferentes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • aspartame 440mg • fruta del monje 630mg • stevia 330mg • sacarosa 65g <p>1h después se les proporcionó un refrigerio ad libitum consistente en arroz frito y agua.</p> <p>Glucosa e insulina fueron medidas a los 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 minutos</p> <p>Los sujetos permanecieron 3 horas más para la evaluación del consumo posterior.</p>	<p>la sacarosa generó grandes picos en la glucosa e insulina durante la primera hora, mientras que esa respuesta fue más alta para las bebidas con edulcorantes posterior al refrigerio. No se observaron diferencias significativas en el ABC total de glucosa e insulina durante las 3 horas de observación, entre ninguno de los tratamientos. La ingesta ad libitum fue significativamente más alta posterior a las bebidas con ENN comparadas con sacarosa (p=0.01)</p>

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad, la obesidad y diabetes representan un serio problema de salud pública en nuestro país. Existe un amplio cuerpo de evidencia que vincula a estas y otras enfermedades, con el creciente consumo de bebidas azucaradas, entre estas, los refrescos de cola. Ante esta situación, el consumo de bebidas “dietéticas” o “light” ha incrementado, como una alternativa en la que se sustituye la porción de carbohidrato por uno o más ENN. Actualmente, el consumo de ENN como el aspartame, acesulfame K, stevia, sucralosa, entre otros, está aprobado por autoridades sanitarias nacionales e internacionales y son considerados agentes seguros.

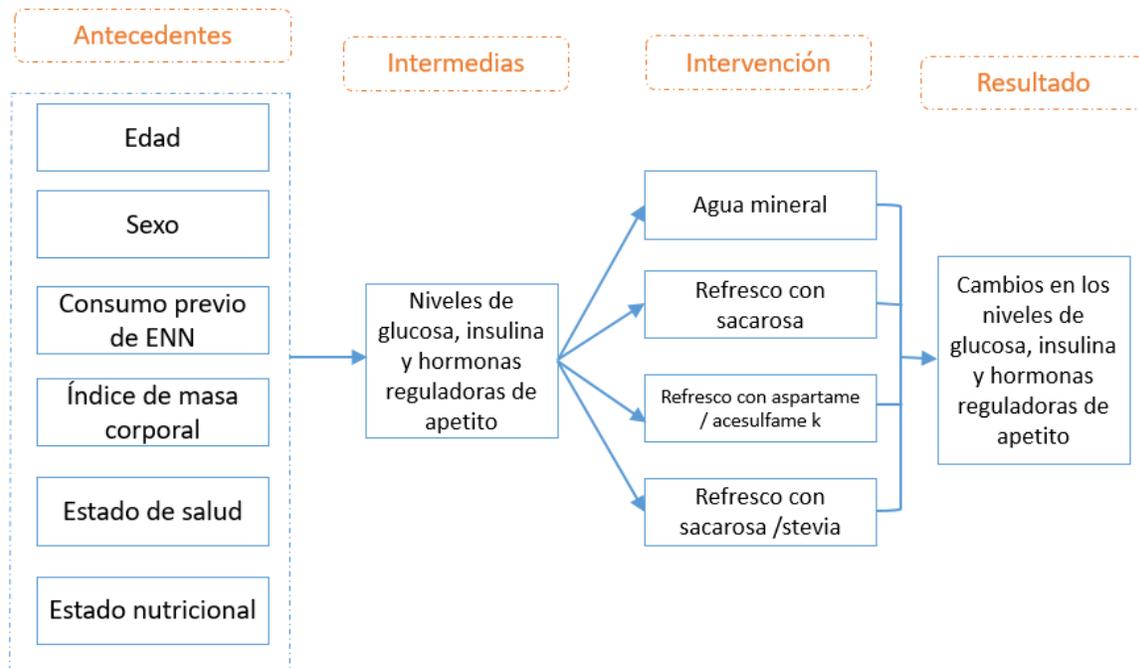
Sin embargo, existe evidencia epidemiológica que señala la participación activa de los ENN en el desarrollo de obesidad, DM y SM. Pese a esto, la evidencia de los efectos agudos del consumo de dichos agentes sobre el metabolismo de la glucosa y la respuesta hormonal es inconsistente y los mecanismos fisiopatológicos que expliquen la relación entre el consumo de ENN y la obesidad, diabetes, entre otras enfermedades metabólicas, no han sido dilucidados.

Considerando lo anterior, se plantea la siguiente

2.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los efectos de 3 tipos diferentes de refresco de cola endulzados con edulcorantes nutritivos y no nutritivos, sobre los niveles séricos de glucosa, insulina, y la respuesta entero endócrina, pancreática y adipocitaria durante las primeras 2 horas posteriores a su ingesta?

Figura 1. Modelo conceptual



3. JUSTIFICACIÓN

La evidencia disponible sobre los efectos agudos del consumo de bebidas con ENN es inconsistente e insuficiente para establecer si su consumo es seguro y no representa riesgos a la salud metabólica de los individuos. Es imperativo desarrollar estudios que identifiquen los efectos a corto plazo, en primer término, de las bebidas que contienen ENN sobre las hormonas que regulan el apetito y participan en la homeostasis de la glucosa, lo cual permitirá conocer de manera más detallada y profunda el papel que juegan dichos agentes en la fisiopatología de la obesidad y diabetes, así como los riesgos que representa su consumo sobre la salud metabólica y el equilibrio energético, lo cual contribuirá a la elaboración de recomendaciones específicas respecto al consumo de ENN, tanto en sujetos sanos como en grupos metabólicamente vulnerables.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

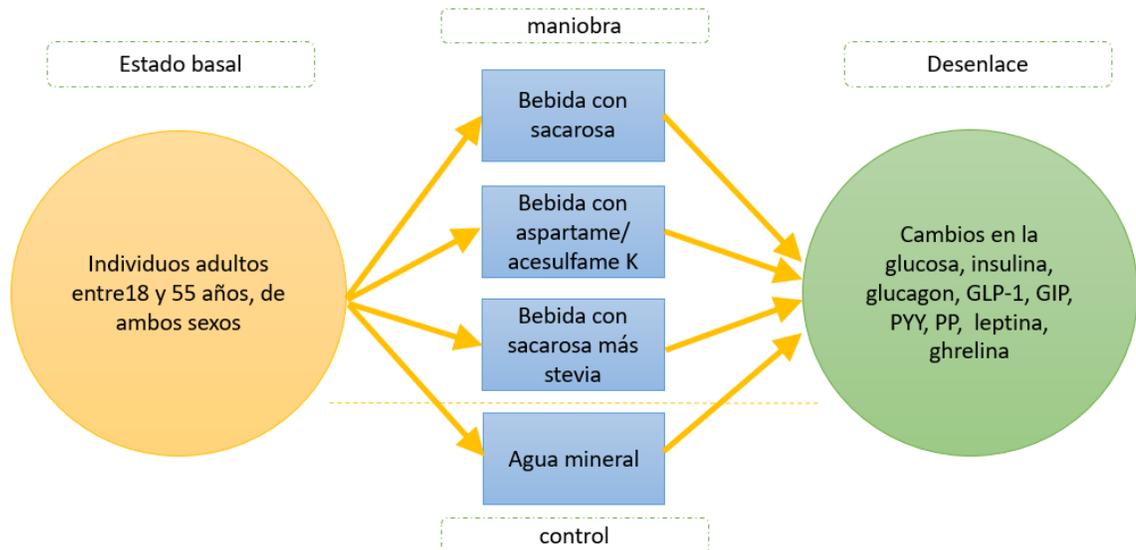
Evaluar el efecto de 3 tipos diferentes de refresco de cola con endulzantes calóricos y no calóricos sobre los niveles de glucosa, insulina, y la respuesta enteroendócrina, pancreática y adipocitaria durante los primeros 120 minutos posteriores al consumo.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los niveles séricos de glucosa, insulina, glucagón, GLP-1, GIP, PYY, leptina, polipéptido pancreático y ghrelina antes y 120 minutos después de la ingestión de 3 tipos diferentes de refrescos de cola y el agua mineral, y las diferencias con respecto a la medición preprandial.

Comparar el Área Bajo la Curva (ABC) a los 120 minutos de la glucosa y cada una de las hormonas, entre los diferentes tipos de refresco de cola y agua mineral.

Figura 2. Diseño arquitectónico del estudio



5. HIPÓTESIS

Considerando las diferencias encontradas en los estudios de Temizkan (56) y Gregersen (51), se plantean las siguientes hipótesis:

- El ABC de glucosa es 20% menor posterior a la ingesta de la bebida endulzada con aspartame /acesulfame K, comparado con el agua mineral
- El ABC de glucosa es al menos 18% menor en el refresco endulzado con sacarosa más stevia, comparado con el agua mineral
- El ABC de GLP-1 es 23% mayor posterior a la ingesta del refresco endulzado con aspartame / acesulfame K, comparado con el agua mineral
- El ABC de glucagon es al menos 20% menor en el refresco endulzado con sacarosa más stevia, comparado con agua mineral

6. METODOLOGÍA

Diseño de estudio: Ensayo clínico cruzado simple ciego, de 4 brazos.

Población de estudio: individuos adultos de ambos sexos

Lugar del estudio: Hospital Infantil de México Federico Gómez

6.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Adultos de 18 a 55 años de edad
- Ambos sexos
- Participación voluntaria expresada a través de la firma de consentimiento informado

6.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Embarazo (fecha de última menstruación >28 días).
- Antecedentes de diabetes mellitus o intolerancia a la glucosa, endocrinopatías, enfermedades pancreáticas.
- Tratamiento con medicamentos o suplementos que modifiquen la glucosa y la insulina (ej. Antihipertensivos, corticoesteroides, hipoglucemiantes, hormonales etc.)
- Enfermedades gastrointestinales o condiciones que alteren el vaciamiento gástrico y el tránsito intestinal.
- Hipersensibilidad a los compuestos que se utilizarán en el estudio.

6.3 CRITERIOS PARA EL RETIRO ANTICIPADO DE LA MANIOBRA DE INTERVENCIÓN

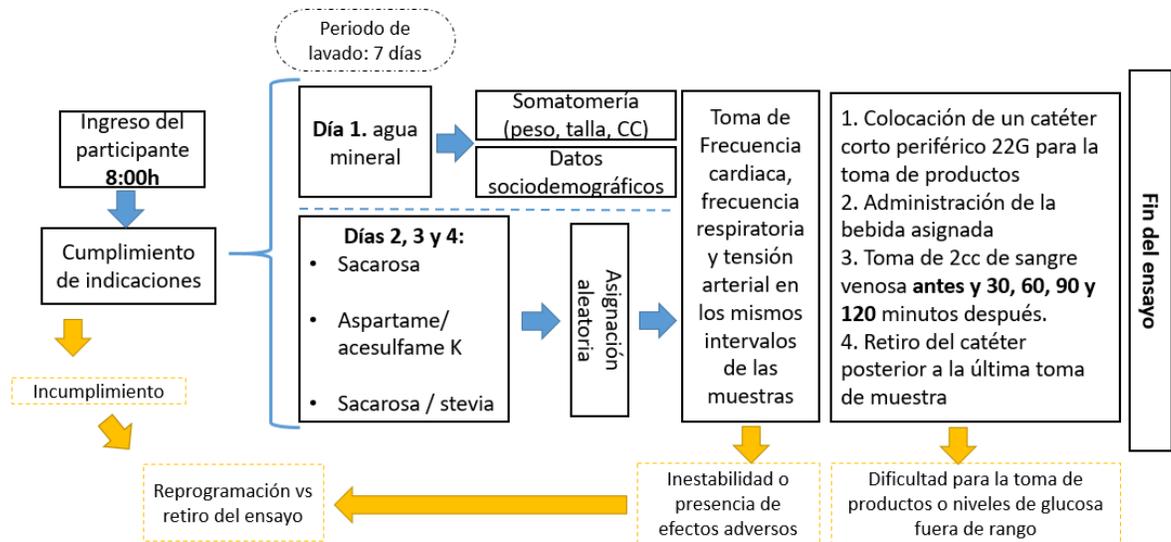
- Incumplimiento de alguna de las sesiones de estudio.
- Sujetos en los que se identifique una glucosa en ayuno $>100\text{mg/dl}$
- Sujetos en los que se detecte una glucosa $>200\text{mg/dl}$ en cualquiera de las determinaciones.
- Sujetos que decidan no continuar con el estudio.
- Sujetos en los que no se logre obtener los productos sanguíneos.
- Sujetos que presenten respuestas adversas o complicaciones durante el periodo de estudio (hipoglicemia, lipotimias etc.)

6.4 PROCEDIMIENTOS

En la figura 3 se explican los procedimientos del estudio

- Se invitó a miembros del personal del Hospital Infantil de México Federico Gómez para participar en el estudio.
- Se recabó la firma del consentimiento informado, posterior a la explicación de los propósitos del estudio, así como los riesgos y beneficios derivados de su participación.

Figura 3. Diagrama de procedimientos realizados durante el estudio



Previo a la realización del estudio:

- Se solicitó que los sujetos no consumieran ningún tipo de ENN durante las 48 horas previas a cada una de las citas para el estudio. Se proporcionó a cada participante un listado con los productos disponibles en el mercado que contienen los diferentes ENN, y que debían ser evitados.
- Se proporcionó un menú estandarizado para la cena previa a la sesión de estudio, consistente en 2 rebanadas de pan integral, 30g de queso panela, 1 rebanada de jamón de pavo, 1 cucharadita de mayonesa y 240ml de leche semidescremada (Aporte nutricional: 346kcal, 50% carbohidratos, 26% proteínas y 24% de grasa, aproximadamente).
- Los sujetos acudieron a 4 sesiones para la administración de las diferentes bebidas incluidas en el estudio, con un ayuno mínimo de 8 horas y con un periodo de lavado entre cada sesión de 7 días.

- En la primera sesión, se midió peso, talla y circunferencia de cintura, se calculó el IMC y se recopilaron datos sociodemográficos de los participantes e información sobre el consumo habitual de refrescos.

En cada sesión

- Previo al inicio de cada intervención se corroboró el cumplimiento de las indicaciones sobre la restricción de edulcorantes, el seguimiento del menú estandarizado y el de ayuno.
- Se tomaron signos vitales: frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y presión arterial, previo al inicio de la intervención y cada 30 minutos durante el periodo de observación, a fin de identificar alteraciones hemodinámicas secundarias a la maniobra de intervención, o situaciones que pudieran alterar los resultados de las pruebas de laboratorio.
- Para la toma de muestras, se instaló un catéter corto venoso periférico BD insyte® de 22GA x 1 pulgada, esterilizado, radiopaco, apirógeno, en alguno de los brazos de los participantes.
- El catéter fue permeabilizado con 0.3-0.5ml de solución salina al 0.9% con heparina a una concentración de 100UI / ml (1:10) para garantizar la obtención de los productos sanguíneos.
- Se obtuvieron de ~4ml de sangre venosa a través del catéter periférico en 5 momentos: previo a la ingesta del refresco designado (minuto 0) y posterior a la ingesta, en los minutos 30, 60, 90 y 120. (Volumen sanguíneo extraído por día: 20ml; volumen máximo durante las 4 semanas del estudio: 80ml). Las muestras fueron recabadas en tubos BD Vacutainer® SST 5ml.

- Los participantes recibieron 355ml de las siguientes bebidas:
 - Agua mineral ciel® (control A)
 - Coca cola light® refresco endulzado con aspartame más acesulfame K (tratamiento B)
 - Coca cola life® refresco endulzado con stevia más sacarosa (tratamiento C)
 - Coca cola regular® refresco endulzado con sacarosa (tratamiento D)

Con un periodo de lavado de 7 días entre cada día de tratamiento.

El volumen utilizado es el equivalente a la presentación en lata 355ml, que es la presentación de mayor consumo dentro del país.

A continuación, se presenta la información respecto al contenido de cada versión de las bebidas, calculada para una porción de 355ml:

Tabla 5. Información nutrimental de las presentaciones de refresco.

Tipo de refresco	(A) Agua mineral	(D) Sacarosa	(B) Aspartame / acesulfame K	(C) Sacarosa y Stevia
Contenido				
Kilocalorías	0	148	0	64
Carbohidratos disponibles	0	37g	0	16g
Azúcares	0	37g	0	16g
Sodio	67mg	70mg	70mg	54mg
Aspartame / Acesulfame K	0	0	40mg/100g**	0
Stevia	0	0	0	4.4 mg/100g
Cafeína	0	34mg	34mg	34mg

**se desconoce la proporción de cada edulcorante por separado.

Durante la primera sesión, todos los participantes recibieron la bebida A, y el resto de las sesiones se asignaron aleatoriamente.

Tabla 6. Aleatorización de los tratamientos

S	Sesión 1	Sesión 2	Sesión 3	Sesión 4
1	A	B	C	D
2	A	D	B	C
3	A	C	B	D
4	A	D	C	B
5	A	C	D	B
6	A	B	C	D
7	A	C	B	D
8	A	B	C	D
9	A	C	B	D
10	A	C	B	D
11	A	D	C	B
12	A	D	C	B
13	A	D	B	C
14	A	C	B	D
15	A	D	C	B
16	A	C	B	D
17	A	B	D	C
18	A	B	C	D
19	A	C	D	B
20	A	D	C	B

*S: folio del sujeto o participante. A: agua mineral. B: refresco endulzado con aspartame/ acesulfame K. C: refresco endulzado con sacarosa /stevia. D: refresco endulzado con sacarosa.

- Las bebidas fueron ofrecidas a los participantes a 4°C aproximadamente, en vasos desechables estandarizados para el estudio, con la finalidad de que los sujetos no pudieran identificar visualmente el tipo de refresco asignado.
- Se les solicitó que ingirieran el volumen total en un periodo máximo de 10 minutos
- A todos los participantes se les solicitó notificar de inmediato al equipo de investigación cualquier malestar o sensación adversa.
- Posterior a la toma de la última muestra se retiró el catéter y se dio por terminada la sesión de estudio.

- Los sujetos que manifestaron sensaciones adversas fueron canalizados a recibir atención médica y retirados de la sesión de estudio

Laboratorio

- Las muestras fueron enviadas al laboratorio con un tiempo menor a 30 minutos posterior a su obtención, e inmediatamente fueron centrifugadas y separadas. Posterior a la medición de glucosa sérica, el suero fue congelado a -4° para su conservación y posterior procesamiento con los kits Milliplex®.
- Para la determinación de los niveles de glucosa sérica se implementó la técnica glucosa oxidasa, que es ampliamente utilizada en diversos laboratorios para la medición de glucosa en sangre, suero y orina. Dicha técnica cuenta con alta precisión intra e inter-ensayo (CV:2.1 y 1.73%, respectivamente), y alta correlación con el reactivo de Gernon ($r=0.993$).
- Para la determinación de los niveles de insulina, glucagon, GLP-1, Péptido tirosina tirosina (PYY), Polipéptido inhibidor gástrico (GIP), polipéptido pancreático (PP), Leptina, Ghrelina, y se implementó el ensayo inmunológico Milliplex Map®, que cuenta con un coeficiente de variación intra-ensayo menor al 10% e inter-ensayo menor al 15%, con una exactitud mayor al 97%.

7. TAMAÑO DE MUESTRA

Se calculó el tamaño de muestra de las 4 hipótesis, considerando la diferencia global en los niveles de glucosa, GLP-1 y glucagon, considerando la fórmula para diferencia de medias:

$$n = 2 \left[\frac{(Z_{\alpha} - Z_{\beta}) DE}{\mu_1 - \mu_2} \right]^2$$

Con un poder de 80% y un nivel de confianza de 95%

Se tomó el tamaño de muestra más grande obtenido

Tabla 7. Cálculo de tamaño de muestra

Estudio	Variable	Resultados reportados	Dif	n
Temizkan S. Turquía. 2014	Glucosa	ABC glucosa: 385 DE 68 vs 787 DE 272	51%	10
	GLP-1	ABC GLP-1: 3192 DE 1108 vs 2463 DE 772	23%	18
Gregersen S. Dinamarca. 2004	Glucosa	ABC glucosa: 638 DE 55 vs 522 DE 64	18%	5
	Glucagon	ABC glucagon: 348 DE 86 vs 281 DE 33	19%	15

Se consideró el tamaño de muestra más alto (n=18), y se incrementó en un 20% para fines de reclutamiento, lo cual resultó en una n=22

Finalmente se incluyeron a 20 participantes.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó estadística descriptiva de todas las variables. Para las variables cualitativas se presentó frecuencia y porcentaje. Para las variables cuantitativas se presentó media y desviación estándar cuando su distribución fue normal, y mediana y rango intercuartilar (RIC) cuando su distribución fue diferente a la normal.

Para las variables de desenlace se realizó un ajuste a la medición basal y se consideró el cambio entre las determinaciones. Se calculó el área bajo la curva (ABC) de cada una de las variables través de un modelo trapezoidal y se analizó por ANOVA de 1 factor. Posteriormente, las diferencias entre los tratamientos se analizaron a través de ANOVA para mediciones repetidas, se consideró el tratamiento y el tiempo como factores.

Para las diferencias de ABC de cada tratamiento comparado con el agua mineral, se realizaron pruebas T de Student para muestras relacionadas.

Se consideraron estadísticamente significativos los valores de p menores a 0.05.

9. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla 8. Operacionalización de las variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidad de medición	Escala de medición
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento del estudio	Diferencia de tiempo entre la fecha de nacimiento y la fecha del estudio	Años	Cuantitativa continua
Sexo	Características fenotípicas del individuo que lo diferencian entre hombre y mujer	Cuestionario de datos sociodemográficos	Categorías: Hombre / mujer	Cualitativa nominal dicotómica
Peso corporal	Cantidad de masa corporal que ejerce fuerza sobre la superficie que la soporta	Medición a través de una báscula calibrada, con el sujeto en ayuno, con ropa ligera y sin zapatos.	Kilogramo (Kg)	Cuantitativa continua
Talla	Longitud máxima de la estatura del individuo desde los pies hasta la cabeza	Medición a través de un estadiómetro, sin zapatos	Metro (m)	Cuantitativa continua
Índice De masa corporal	Relación del peso en kilogramos y el cuadrado de la talla en metros. Es utilizado como una medición indirecta del grado de adiposidad	Se dividió el peso corporal obtenido entre la talla de los sujetos elevada al cuadrado	Kg/m ²	Cuantitativa continua
Circunferencia de cintura	Medición transversal de la región abdominal, se utiliza como indicador indirecto del tejido adiposo abdominal	Se midió a través de una cinta métrica flexible, con la región abdominal descubierta y durante la espiración	Centímetros (cm)	Cuantitativa continua
Tipo de refresco consumido regularmente	Nombre y presentación de la bebida gasificada endulzada que el sujeto ingiere habitualmente	Cuestionario de datos sociodemográficos	Consume / no consume Tipo de refresco consumido	Cualitativa nominal
Consumo promedio de refresco	Ingesta promedio individual de bebidas gasificadas con algún tipo de endulzante ya sea nutritivo o no nutritivo, en sus distintas presentaciones	Cuestionario de datos sociodemográficos	ml /semana ingeridos de cualquier presentación de refresco	Cuantitativa continua

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidad de medición	Escala de medición
<i>Variables independientes</i>				
Tipo de Bebida	Tipo de tratamiento ofrecido durante la intervención del presente estudio, ingerido por el participante	Intervención del estudio	355ml de alguna de las siguientes bebidas: *Agua mineral *Refresco de cola regular *refresco endulzado con aspartame /acesulfame K *refresco endulzado con sacarosa /stevia	Cualitativa nominal
<i>Variables dependientes</i>				
Glucosa	Cantidad del monosacárido determinado en el plasma sanguíneo de los participantes a través de una muestra periférica	Se determinó a través del método glucosa oxidasa	Miligramos por decilitro (mg/dl)	Cuantitativa continua
Hormonas reguladoras del apetito	Hormonas que son secretadas durante la ingesta alimentaria y participan activamente en las respuestas de apetito y saciedad del individuo.	Se determinaron los niveles séricos a través del método de ensayo inmunológico por láser "Milliplex", cuyo kit incluye: insulina, Glucagon, GIP, GLP-1, PYY, leptina, polipéptido pancreático y ghrelina.	Insulina μ UI/ml Glucagon pg/ml GLP-1 pM GIP pg/ml PYY pg/ml Leptina Pg/ml PP pg/ml Ghrelina pg/ml	Cuantitativa continua

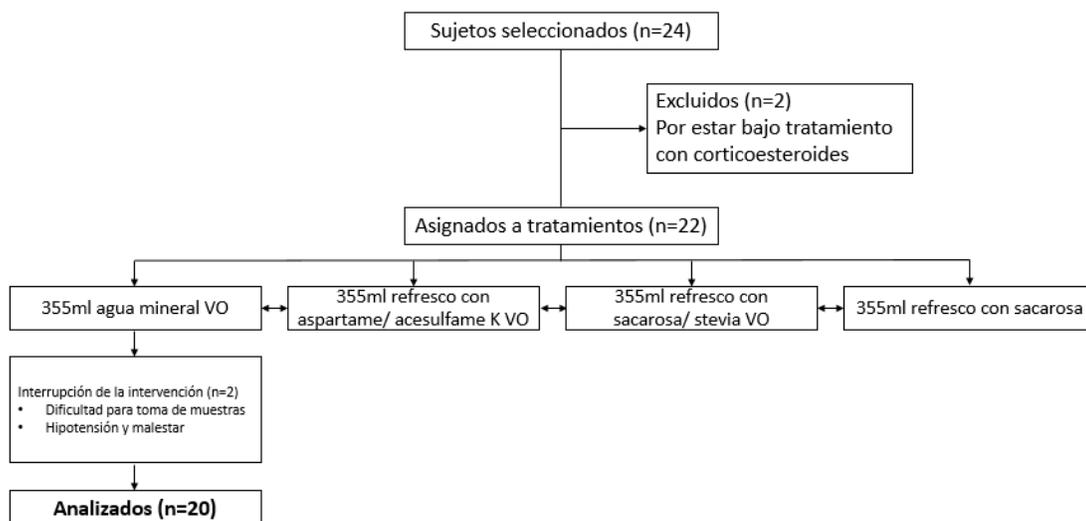
10.RESULTADOS

10.1 CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

Se invitó a miembros del personal del Hospital Infantil de México Federico Gómez. se reclutaron 13 hombres y 11 mujeres, a quienes se les realizó un interrogatorio preliminar para corroborar el cumplimiento de los criterios de selección. 2 sujetos (hombres) fueron excluidos por encontrarse bajo tratamiento con corticoesteroides al momento de la entrevista. Durante la primera sesión, uno de los participantes (hombre) presentó hipotensión acompañada de mareo y malestar general posterior a la administración de una de las bebidas de prueba, por lo que fue canalizado al servicio de urgencias para ser atendido, y fue retirado del estudio. Otro sujeto (mujer) presentó dificultades para la instalación del catéter venoso periférico y la obtención de muestras de sangre, por lo que declinó su participación en el ensayo. El resto de los participantes, 10 hombres y 10 mujeres, concluyeron satisfactoriamente las 4 sesiones del ensayo clínico (figura 1).

La media de edad de los participantes fue de 36.1 años y la media de IMC fue de 25.8 ± 3.9 kg/m² (2 presentaron sobrepeso y 2 obesidad). La media de consumo de refresco fue de 783.7 ml por semana, lo que equivale a 2.2 latas de refresco de 355ml. De estos, el 15% refiere consumir habitualmente refrescos "light" de diferentes marcas y presentaciones (tabla 9). Respecto a los niveles basales de glucosa, la mediana fue de 91.0mg/dl y todos los resultados durante los 120 minutos del estudio estuvieron por debajo de 200mg/dl (tabla 10).

Figura 4. Diagrama de flujo de pacientes



RECLUTAMIENTO

ASIGNACIÓN

SEGUIMIENTO

ANÁLISIS

Tabla 9. Características generales de los participantes

Variable	n=20		
	Media	±	DE (%)
Hombres n (%)	10		50
Edad (años)	36.1	±	8.0
Peso (kg)	69.6	±	12.2
Talla (cm)	164.2	±	9.4
IMC (kg/m ²)	25.8	±	3.9
Circunferencia de cintura (cm)	86.0	±	10.7
Presión arterial sistólica (mmHg)	107.9	±	14.1
Presión arterial diastólica (mmHg)	74.2	±	10.9
Consumo de refresco (ml/sem)	783.75	±	700.87
Refresco con ENN n (%)	3		15

*Los datos se presentan como frecuencia y porcentaje en el caso de las variables cualitativas, y media y desviación estándar, en el caso de las variables cuantitativas. IMC. Índice de masa corporal. ENN. Edulcorante no nutritivo

Tabla 10. Resultados de glucosa y hormonas reguladoras de apetito previo al consumo de los refrescos (T0)

Variable	Mediana	(p25-p75)
Glucosa (mg/dl)	91.0	(86.5-95.5)
Insulina (pg/ml)	4465	(2376-5784)
Glucagon (pg/ml)	1247.3	(830-1654)
GLP-1 (pg/ml)	4.1	(2.7-14.7)
GIP (pg/ml)	23.8	(15.7-30.2)
Leptina (pg/ml)	5065.9	(2438-10456)
Ghrelina (pg/ml)	8.3	(5.2-29.0)
PYY (pg/ml)	13.7	(13.7-46.7)
P. pancreático (pg/ml)	39.9	(17.9-51.6)

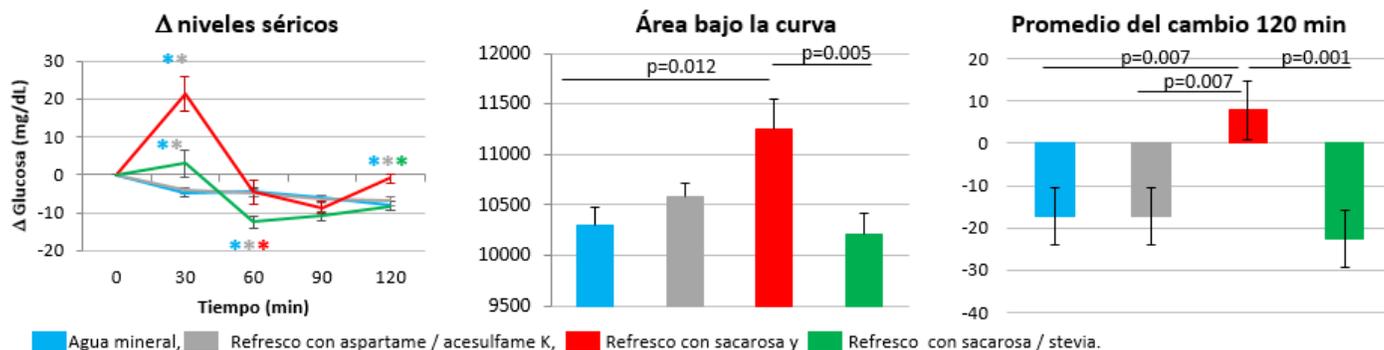
n= 20 participantes

Los datos se presentan en mediana y rango intercuartilar (p25-p75), debido a que la distribución encontrada fue diferente a la normal

10.2 RESULTADOS DE GLUCOSA Y HORMONAS REGULADORAS DEL APETITO

Se observó un incremento súbito en los niveles de glucosa de 21.4mg/dL con respecto al basal, a los 30 minutos posteriores a la ingestión del refresco endulzado con sacarosa, que disminuyó a los 60 minutos 4.6mg/dL por debajo de los niveles basales, normalizándose progresivamente hasta los 120 minutos. Se observó un comportamiento similar en el refresco endulzado con sacarosa / stevia, aunque de menor intensidad (figura 2).

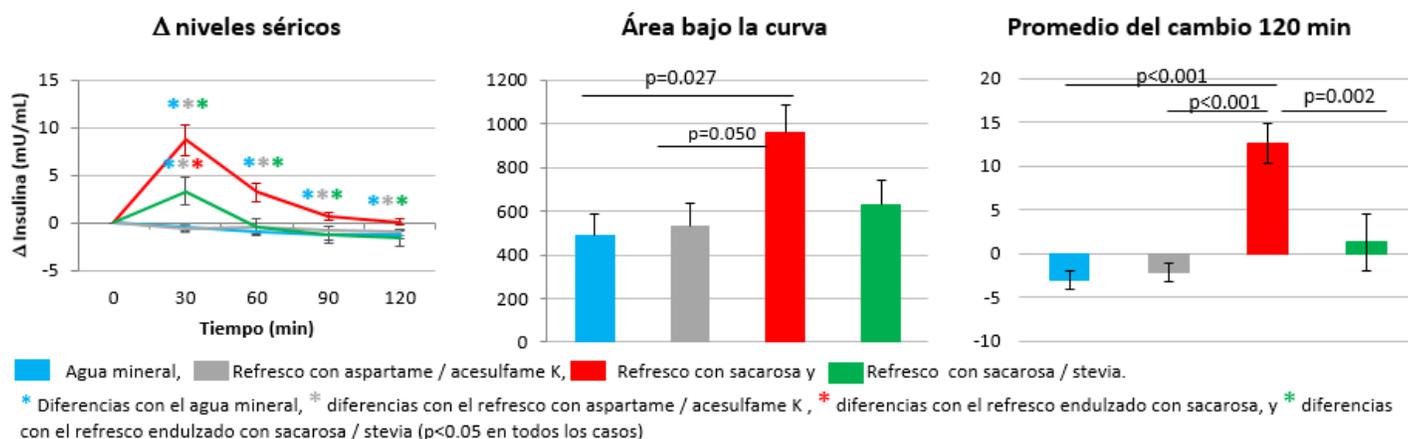
Figura 5. Comportamiento de glucosa durante 120 minutos, según el refresco consumido



* Diferencias con el agua mineral, * diferencias con el refresco con aspartame / acesulfame K, * diferencias con el refresco endulzado con sacarosa, y * diferencias con el refresco endulzado con sacarosa / stevia (p<0.05 en todos los casos)

El aspartame /acesulfame K mantuvo un comportamiento estrechamente similar al agua mineral en todos los tiempos. En ambos se observó una disminución paulatina en los niveles de glucosa, cuya diferencia máxima fue de 8.05mg/dL por debajo del basal en el agua mineral y 6.95mg/dL en el refresco light. Se observaron diferencias significativas entre la sacarosa y sacarosa / stevia en los minutos 60 y 120, y no se observaron diferencias significativas entre los cambios en el refresco con aspartame más acesulfame K y el agua mineral. el ABC de glucosa presentó diferencias significativas posterior a la sacarosa comparada con el agua mineral ($p=0.012$) y sacarosa / stevia ($p=0.005$). En el promedio de las diferencias en los 120 minutos de observación, el refresco endulzado con sacarosa mantuvo diferencias estadísticamente significativas con el resto de los tratamientos.

Figura 6. Comportamiento de insulina durante 120 minutos, según el refresco consumido

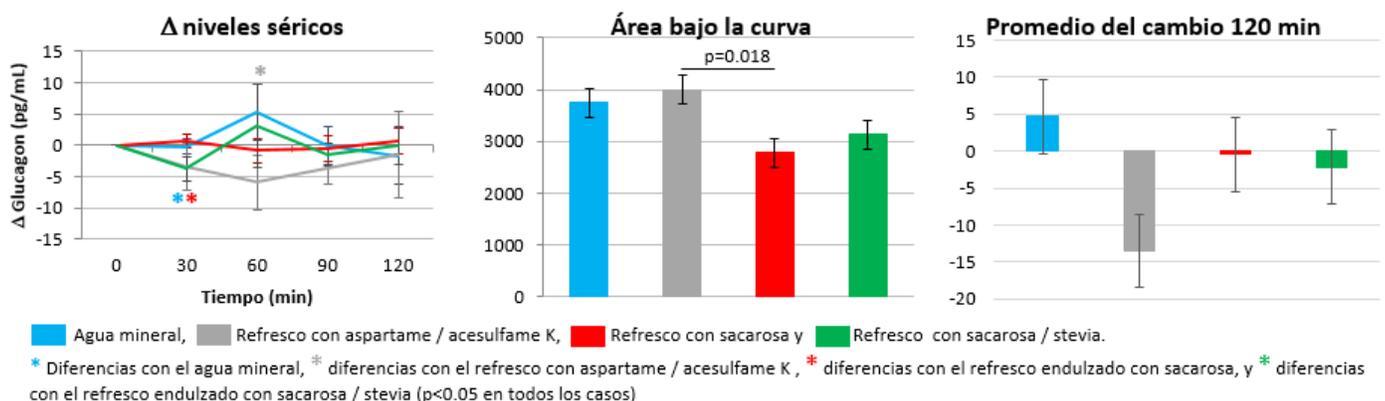


Se observó un incremento súbito en los niveles de insulina posterior a la ingestión de sacarosa durante los primeros 30 minutos, que fue disminuyendo paulatinamente hasta normalizarse a los 120 minutos. Sacarosa / stevia mostró un comportamiento similar a la sacarosa, mientras que el agua mineral y el aspartame / acesulfame K mostraron un comportamiento idéntico durante todo el seguimiento. Se observaron diferencias significativas entre la sacarosa y el resto de los tratamientos en todas las determinaciones y no se observaron diferencias significativas entre el agua mineral y el aspartame / acesulfame K. El ABC de insulina fue significativamente superior, posterior a la ingesta de sacarosa

comparada con agua mineral ($p=0.027$) y aspartame / acesulfame K ($p=0.05$) El promedio de las diferencias globales en los niveles de insulina mostró diferencias estadísticamente significativas entre el refresco endulzado con sacarosa y el resto de los tratamientos ($p<0.005$) (figura 3).

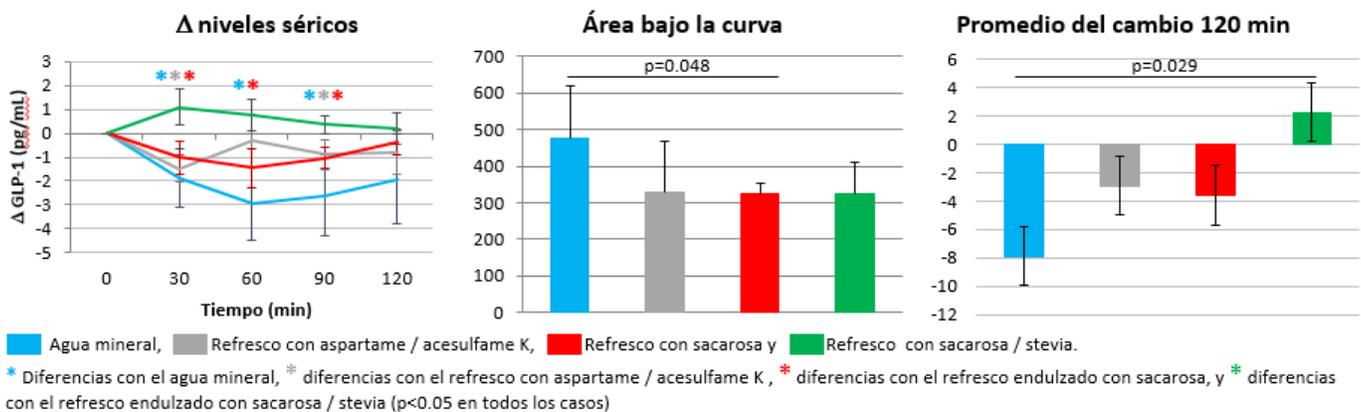
Los niveles de glucagon en la sacarosa mantuvieron un patrón estable durante los 120 minutos del seguimiento. La sacarosa / stevia mostró la máxima variabilidad entre los diferentes intervalos de tiempo, siendo su máximo pico de 3.14pg/ml por encima del basal y su nadir de 3.76pg/ml por debajo del basal en el minuto 30. El agua mineral y el aspartame / acesulfame K mostraron una tendencia inversa, el agua mineral sostuvo un incremento por encima del basal, que fue más pronunciado en el minuto 60 con 5.37pg/ml mientras que el aspartame / acesulfame K mantuvo una tendencia decreciente, alcanzando el nadir en el minuto 60 con 5.94pg/ml por debajo de su basal. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre sacarosa / stevia comparado con agua mineral y sacarosa a los 30 minutos, y entre agua mineral y aspartame /acesulfame K a los 60 minutos. Solo se observó diferencia en el ABC de glucagon entre sacarosa y aspartame /acesulfame K ($p=0.018$). Finalmente, no se observaron diferencias significativas en el promedio de las diferencias entre ninguno de los tratamientos (ver figura 4).

Figura 7. Comportamiento de glucagon durante 120 minutos, según el refresco consumido



En cuanto a los niveles de GLP-1, el refresco con sacarosa /stevia provocó un ligero incremento, seguido de disminución progresiva hasta su normalización a los 120 minutos. El resto de los tratamientos mostraron una tendencia decreciente, aunque cercana a los niveles basales durante el seguimiento. Se observaron diferencias significativas entre sacarosa / stevia comparada con el agua mineral, aspartame /acesulfame K y sacarosa en el minuto 30, y comparada con el agua mineral y sacarosa a los 60 minutos. El ABC de GLP-1 mostró diferencias significativas únicamente entre el agua mineral y la sacarosa ($p=0.048$), y se observaron diferencias significativas en el promedio de las diferencias globales entre el agua mineral y sacarosa / stevia ($p=0.029$) (figura 5).

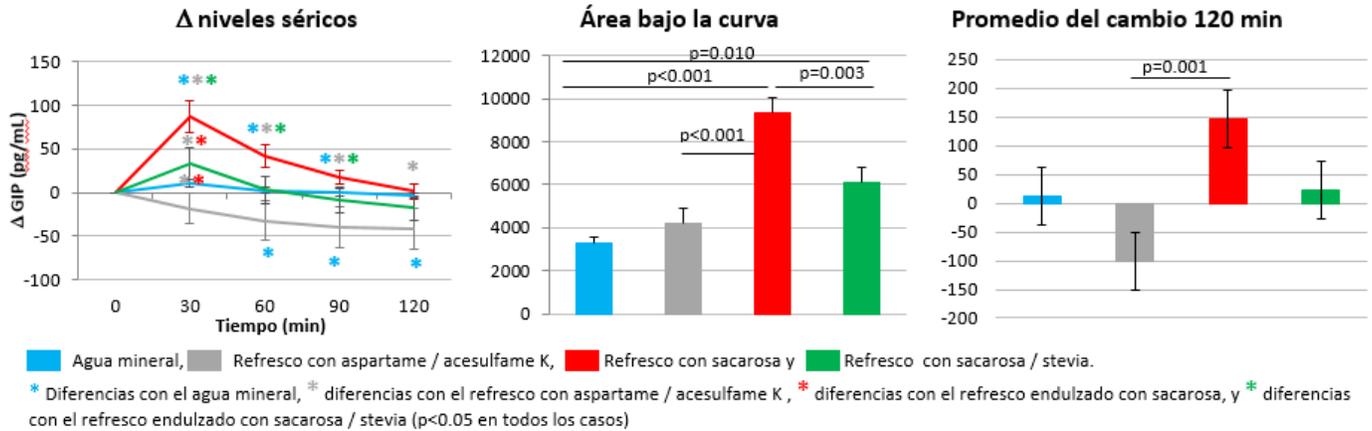
Figura 8. Comportamiento de GLP-1 durante 120 minutos, según el refresco consumido



Los niveles de GIP incrementaron a los 30 minutos posteriores a la ingesta de sacarosa, con disminución paulatina hasta sus niveles basales. Los niveles de la hormona mostraron una tendencia muy similar entre las bebidas que contenían sacarosa y sacarosa / stevia. El agua mineral mostró un comportamiento estable durante todo el seguimiento, y el aspartame / acesulfame K presentó una disminución progresiva de GIP que se sostuvo hasta el minuto 120. Se observaron diferencias significativas entre sacarosa y sacarosa / stevia en los minutos 30, 60 y 90 y se entre el agua mineral y el aspartame / acesulfame K en los minutos 90 y 120. El ABC de GIP mostró diferencias significativas entre el agua mineral y la bebida con sacarosa / stevia ($p=0.01$) y entre la sacarosa y el resto de los tratamientos

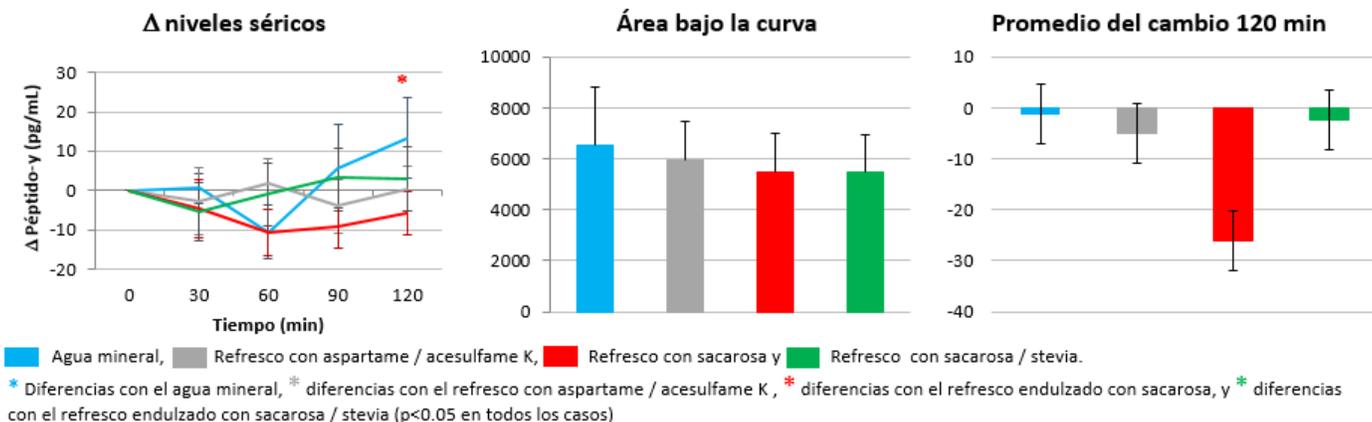
($p < 0.05$ en todos los casos). En cuanto al promedio global de las diferencias, sólo se observaron diferencias significativas entre la sacarosa y el aspartame / acesulfame K ($p = 0.001$) (figura 6).

Figura 9. Comportamiento de GIP durante 120 minutos, según el refresco consumido



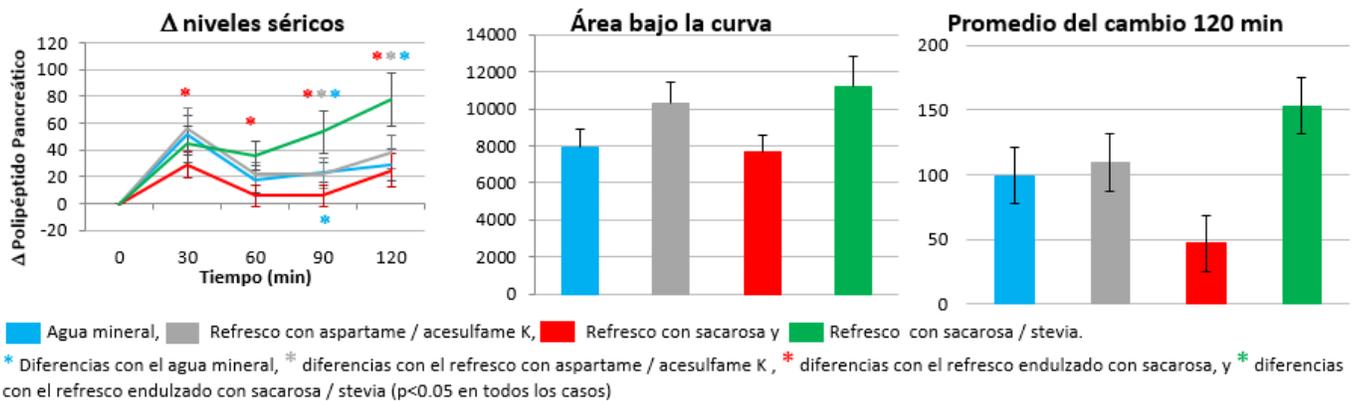
En cuanto al péptido YY, el refresco endulzado con sacarosa presentó una tendencia decreciente con ligera recuperación a los 120 minutos. El resto de los tratamientos mostraron una tendencia errática. Solo se observaron diferencias significativas entre sacarosa y agua mineral a los 120 minutos y no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las ABC ni en el promedio global de las diferencias entre los 4 tratamientos (figura 7)

Figura 10. Comportamiento de péptido YY durante 120 minutos, según el refresco consumido



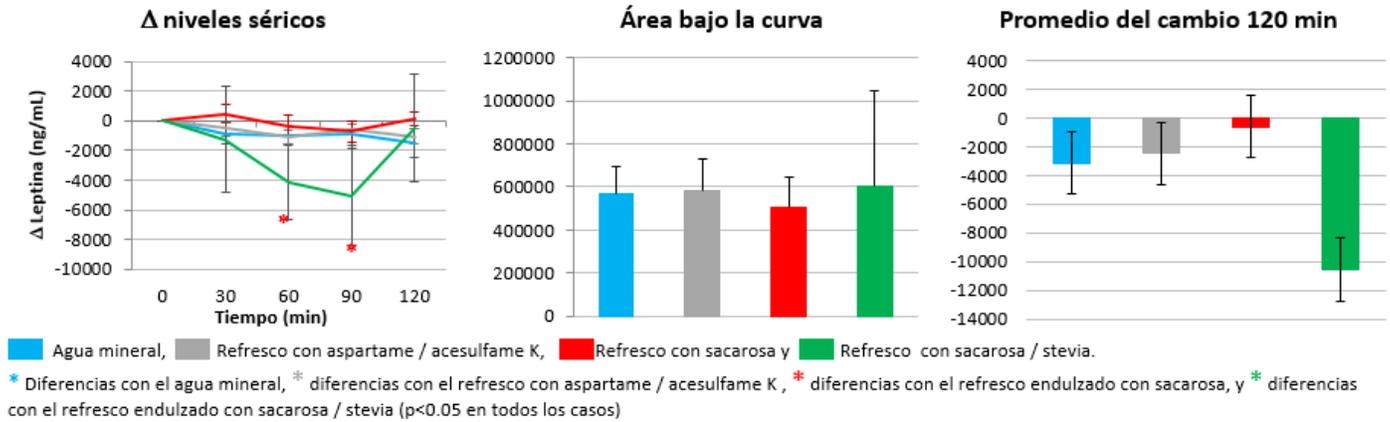
La tendencia de polipéptido pancreático fue muy similar entre todos los tratamientos. Sin embargo, el refresco con sacarosa / stevia mostró una tendencia creciente a partir del minuto 60, que se sostuvo hasta el final del seguimiento, alcanzando diferencias significativas con la sacarosa en los minutos 60, 90, y 120, y con el aspartame / acesulfame K y el agua mineral en los minutos 90 y 120. Se observaron también diferencias significativas entre el aspartame / acesulfame K y la sacarosa en el minuto 30, y el agua mineral con respecto a la sacarosa en el minuto 90. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el ABC ni en el promedio global entre ninguno de los tratamientos (figura 8).

Figura 11. Comportamiento de polipéptido pancreático durante 120 minutos, según el refresco consumido



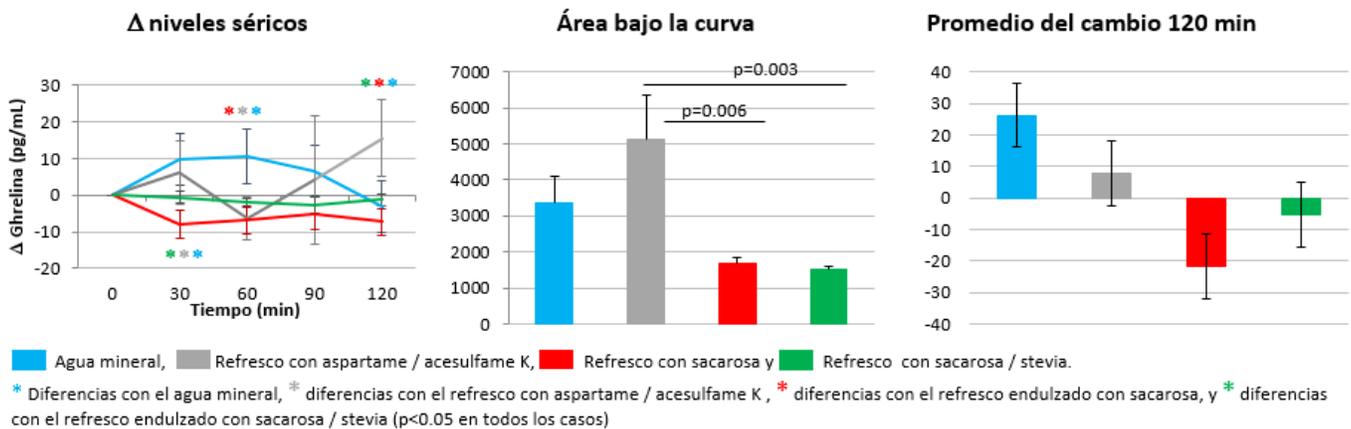
En cuanto al comportamiento de la leptina, sacarosa / stevia mostró un declive pronunciado que se sostuvo hasta los 90 minutos, regresando a su basal al final del seguimiento. El resto de los tratamientos mostraron un comportamiento estable y cercano a sus basales. Se observaron diferencias significativas entre sacarosa y sacarosa / stevia a los 60 y 90 minutos. Sin embargo, el ABC y el promedio global no reportan diferencias significativas (figura 9).

Figura 12. Comportamiento de leptina durante 120 minutos, según el refresco consumido



Por último, el refresco con sacarosa /stevia mostró niveles de ghrelina estables durante todo el seguimiento. La sacarosa mostró una disminución sostenida hasta el final del seguimiento. Por su parte el agua mineral mostró un incremento progresivo con atenuación posterior hasta su basal. El aspartame / acesulfame K mostró una tendencia distinta al agua mineral, con incremento al final del seguimiento. Se observaron diferencias significativas en el minuto 60 entre el agua mineral, comparada con sacarosa, aspartame /acesulfame K y sacarosa / stevia. El ABC de ghrelina mostró diferencias significativas entre aspartame / acesulfame K, comparado con sacarosa y sacarosa / stevia (p=0.006 y p=0.003 respectivamente) y no se observaron diferencias significativas en el promedio global de las diferencias (figura 10).

Figura 13. Comportamiento de ghrelina durante 120 minutos, según el refresco consumido



11. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran un comportamiento diferencial de los ENN comparados con el agua mineral y la sacarosa. Las diferencias observadas reflejan modificaciones importantes en la respuesta hormonal que pueden representar un desajuste con potencial repercusión en la homeostasis de la glucosa a un mediano plazo, y tener efectos sobre la ingesta alimentaria, atenuar o retrasar la respuesta de saciedad, o bien, inducir fluctuaciones en los niveles de glucosa e insulina, modificando el sistema de contra regulación hormonal, poniendo en riesgo el equilibrio energético y la salud metabólica del individuo. El presente es el primer estudio en incluir 3 diferentes versiones de la marca de refresco con más ventas en el país y los resultados serán de suma utilidad para elucidar el papel de su consumo en el desarrollo de diferentes enfermedades, a la vez que permitirá desarrollar recomendaciones respecto a su consumo.

Los hallazgos más importantes encontrados en el presente estudio se mencionan a continuación:

- Disminución de los niveles de glucosa posterior a la bebida con sacarosa / stevia, hasta 12.5mg/dl por debajo de su basal en el minuto 60 del seguimiento.
- Supresión de los niveles de glucagon de 4.73pg/ml por debajo de su basal en el minuto 60, posterior al aspartame / acesulfame k.
- Supresión de GIP a los 30, 90 y 120 minutos, posterior a la bebida con aspartame / acesulfame K alcanzando 40.63pg/ml por debajo de su basal en el minuto 120.
- Incremento de Polipéptido pancreático a los 90 y 120 minutos posterior al refresco con sacarosa / stevia, alcanzando 73.37pg/ml por encima de su basal a los 120 minutos.

- Disminución de los niveles de leptina a los 60 y 90 minutos posterior a la bebida con sacarosa / stevia, alcanzando 4.85pg/ml de diferencia con respecto a su basal a los 90 minutos.
- El aspartame / acesulfame K mostró una tendencia opuesta al agua mineral en los niveles de ghrelina, con una diferencia estadísticamente significativa en el minuto 60 de 17.13pg/ml entre ambas bebidas.

11.1 REFRESCO ENDULZADO CON SACAROSA

La respuesta observada en los niveles de glucosa, insulina y glucagon posterior a la bebida endulzada con sacarosa es coherente con la respuesta esperada posterior a la ingestión de una porción de carbohidrato y es consistente con lo reportado en estudios previos (31,44,47,50,54,57) que han utilizado diferentes dosis de glucosa o sacarosa como comparador y a diferentes vías de administración.

En cuanto a las hormonas reguladoras del apetito, se observaron niveles de GLP-1 estables durante los 120 minutos del seguimiento posterior a la bebida endulzada con sacarosa, con una ligera tendencia a la disminución que es estadísticamente diferente de sacarosa / stevia a los 30 y 60 minutos. La mayoría de los estudios previos que incluyeron alguna dosis de carbohidrato como comparador positivo y que analizaron GLP-1 mostraron un incremento (31,44,56–58) de la hormona antes de los 30 minutos, seguido de atenuación progresiva hasta sus niveles basales. En el presente estudio se realizó la primera medición hasta los 30 minutos sin cortes intermedios por lo que es muy probable que el pico esperado en GLP-1 en respuesta a la sacarosa no haya sido identificado en nuestros resultados. Un efecto similar fue observado en péptido YY, que no mostró cambios relevantes durante los 120 minutos. Estudios previos han mostrado que el pico de la hormona en respuesta a glucosa intragástrica (44) y vía oral (58) sucede antes de los 30 minutos.

Pese a que el pico en GIP también ha sido identificado antes de los 30 minutos en estudios previos a una carga mayor de carbohidrato (58) y diferente vía (31), nuestros resultados muestran un incremento significativo a los 30 minutos, seguido de disminución progresiva, que es esperado en respuesta a la ingestión de un carbohidrato.

Finalmente, los resultados de ghrelina son consistentes con lo reportado en estudios previos (44,46) y al igual que lo observado en leptina y polipéptido pancreático, muestran un comportamiento coherente con lo biológicamente esperado.

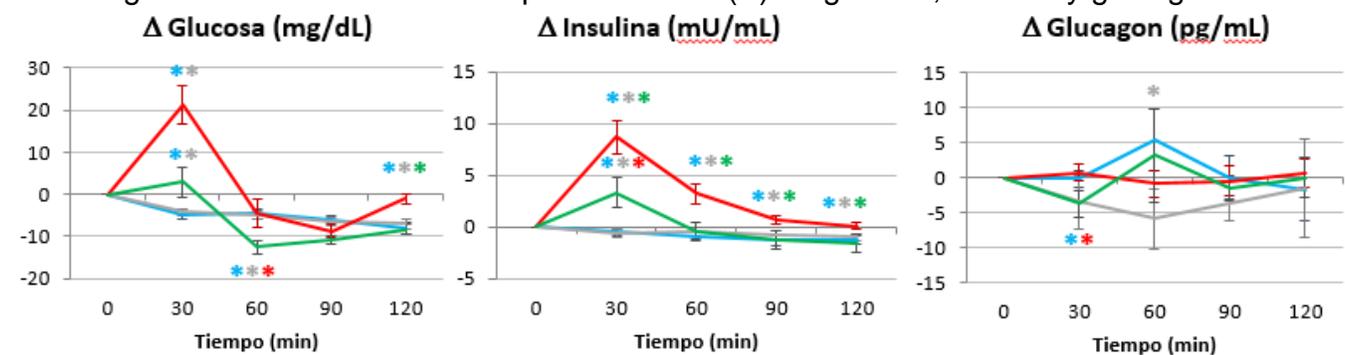
11.2 REFRESCO ENDULZADO CON ASPARTAME / ACESULFAME K

Los niveles de glucosa e insulina fueron muy similares entre el refresco con aspartame con acesulfame K y el agua mineral, lo cual es consistente con resultados previos (44,46,48,50,54,56) que compararon ambos edulcorantes juntos o por separado con agua mineral o agua simple administradas por diferentes vías.

Se observó una supresión de glucagon de 5.93pg/ml posterior a la administración de la bebida con aspartame / acesulfame K, que tuvo una tendencia opuesta al agua mineral y fue estadísticamente diferente de ésta en el minuto 60. Dicha tendencia es similar a los resultados de Horwitz (48), aunque no se observaron diferencias significativas en sus resultados. El efecto sobre glucagon es inesperado ya que éste se ve incrementado ante episodios de hipoglicemia o ayuno y suprimido ante el incremento de glucosa o de insulina nuestros resultados muestran niveles de glucosa e insulina estables posterior a la bebida con aspartame / acesulfame K y muy similares al agua mineral, por lo que podemos asumir que la supresión de glucagon encontrada es independiente de la glucosa e insulina (Figura 11). El glucagon se ve suprimido por efecto de GLP-1 ante la ingesta de carbohidratos (36), manteniendo estables los niveles de glucosa sérica, por lo que sería esperado que la supresión de glucagon estuviera precedida de un pico en los niveles de GLP-1, sin embargo, en nuestros resultados no fue posible identificar

dicha respuesta. El glucagon disminuye la ingesta de alimento e incrementa el gasto energético a nivel tisular (12) por lo que es posible que la supresión prolongada de glucagon derivada de la ingesta habitual de aspartame / acesulfame K, pueda tener efectos sobre la ingesta de alimento y disminuir el gasto energético, incrementando el riesgo de sobrepeso y obesidad. Aunado a lo anterior, La supresión total de glucagon, puede incrementar el riesgo de hiperglicemia secundaria a la hiperplasia de células alfa y pancreatomegalia (65). Debido al corto periodo de observación, nuestros resultados no son capaces de determinar si la frecuencia o magnitud del consumo de dicha bebida podría potenciar o prolongar la supresión de glucagon identificada, por lo que es necesaria mayor investigación sobre dicha relación en un mediano plazo.

Figura 14. Diferencias con respecto al basal (Δ) en glucosa, insulina y glucagon

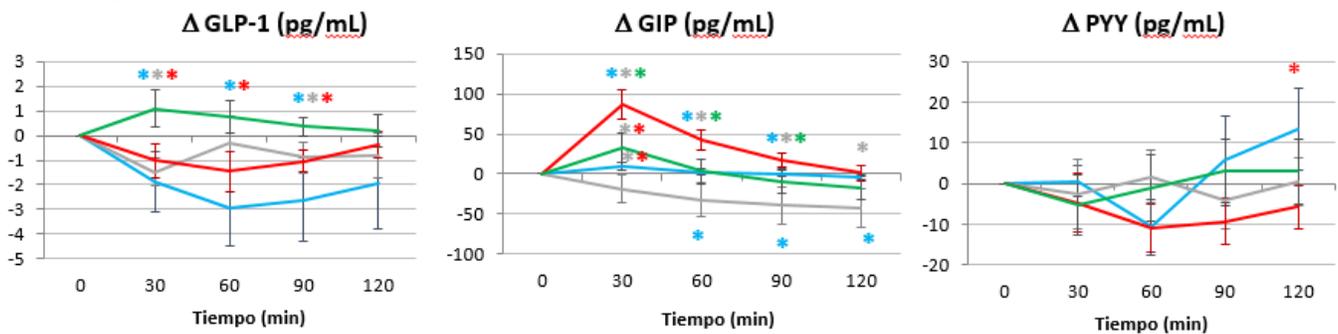


* Diferencias con el agua mineral, * diferencias con el refresco con aspartame / acesulfame K, * diferencias con el refresco endulzado con sacarosa, y * diferencias con el refresco endulzado con sacarosa / stevia ($p < 0.05$ en todos los casos)

Se observó una tendencia diferente en GLP-1 entre el aspartame / acesulfame K y el agua mineral, sin embargo, no hubo diferencias significativas en ninguna de las mediciones entre ambos tratamientos, lo cual es consistente con los resultados de estudios previos (44,46) que analizaron la respuesta de los ENN sin un aporte energético simultáneo o posterior. En contraste, Brown (57) reporta que el área bajo la curva de GLP-1 posterior a la ingesta de un refresco que contenía acesulfame K fue estadísticamente superior al agua mineral. En un estudio posterior con una muestra más amplia (58), el mismo autor reporta un área bajo de la curva de GLP-1 34% mayor en el refresco con ENN, comparado con el agua mineral. Sin embargo, en ambos estudios utilizó una presentación de refresco con sucralosa más

acesulfame K combinados, por lo que no es posible atribuir el efecto a algún edulcorante en específico. Adicionalmente, los sujetos fueron sometidos a una prueba oral de tolerancia a la glucosa con 75g del carbohidrato, lo que pudo haber influido en un resultado diferente al nuestro. Temizkan (56), analizó el efecto en GLP-1 de la ingesta de aspartame y, al igual que Brown, realizó una prueba oral de tolerancia a la glucosa de 75g, sin embargo no reportó diferencias estadísticamente significativas en el área bajo la curva entre el ENN y agua. Dado que tanto el agua mineral como la bebida con aspartame / acesulfame K carecen de carbohidratos o algún otro componente energético, es esperado que guarden un comportamiento muy similar y muestren estabilidad durante los 120 minutos.

Figura 15. Diferencias con respecto al basal (Δ) en GLP-1, GIP y péptido YY



* Diferencias con el agua mineral, * diferencias con el refresco con aspartame / acesulfame K, * diferencias con el refresco endulzado con sacarosa, y * diferencias con el refresco endulzado con sacarosa / stevia (p<0.05 en todos los casos)

En cuanto a GIP, se observaron niveles inferiores en el aspartame / acesulfame K comparado con agua mineral, en los minutos 60, 90 y 120. Dicho resultado contrasta con lo observado por Maersk (46), donde no se encontró diferencia en ninguna de las determinaciones. En otros estudios que han explorado los efectos sobre GIP de diferentes edulcorantes, con (58,61) y sin (31) carga de carbohidrato posterior, tampoco se observan diferencias significativas. Sólo en el estudio de Pepino (63) se reportan niveles de GIP relevantemente superiores en el caso de la sucralosa, comparados con agua, aunque el área bajo la curva no muestra diferencias. GLP-1 influye en la producción de GIP (66), por lo que se esperaría que el incremento de GIP estuviera precedido o acompañado de un aumento de GLP-1. Por el contrario, en nuestros resultados no es posible identificar

dicho efecto. Adicionalmente, los niveles de GIP se incrementan en respuesta a la ingesta de carbohidratos, ácidos grasos, proteínas (35), por lo que el incremento de la hormona posterior a la ingestión de una bebida libre de componentes energéticos es inesperado. GIP tiene una participación activa en la regulación de la ingesta a través de la inhibición de la secreción gástrica, y en la homeostasis de la glucosa, incrementando la respuesta de la célula beta, estimulando su proliferación e inhibiendo su apoptosis (33), por lo que la supresión de la hormona asociada al consumo de refresco endulzado con aspartame / acesulfame K puede impactar negativamente en el metabolismo de la glucosa y la regulación de la ingesta alimentaria.

En el caso de PYY, pese a que la tendencia es opuesta entre el refresco endulzado con aspartame / acesulfame K y el agua mineral, no se observaron cambios relevantes durante el periodo de seguimiento, lo cual era esperado dada la ausencia de nutrientes en ambos tratamientos. Dicho resultado es consistente con Steinert (44) que no encontró diferencias significativas entre aspartame, acesulfame K (analizados por separado) y agua, y con Brown (58) que administra conjuntamente sucralosa y acesulfame K posterior a una prueba oral de tolerancia a la glucosa.

Los niveles de ghrelina posteriores a la ingestión de aspartame / acesulfame K mostraron una tendencia errática y opuesta al agua mineral, además de niveles elevados a los 120 minutos del periodo de seguimiento. el ayuno prolongado estimula el incremento de los niveles de ghrelina (25), incrementando la respuesta de apetito, sin embargo, nuestro resultado no es atribuible al ayuno dado que el comportamiento fue diferente al del agua mineral que al igual de la bebida con aspartame / acesulfame K carece de aporte energético. Ambas bebidas fueron ingeridas bajo las mismas condiciones de volumen y temperatura, y con un ayuno mínimo de 8 horas. Se ha reportado, además, que el polipéptido pancreático y la leptina (29,67) influyen en la expresión de péptidos orexigénicos, como la ghrelina. En nuestros resultados se observa un pico en los niveles de polipéptido pancreático a los 30 minutos en todos los tratamientos, sin que este resultado influyera en los niveles de ghrelina en los otros tratamientos. Es posible que el incremento esperado

en la ghrelina se viera postergado por efecto de aspartame / acesulfame K, por lo que el pico se presenta hasta los 120 minutos, mientras disminuye la hormona hasta sus niveles basales en el agua mineral. Éste comportamiento es consistente con lo observado por Maersk (46) en cuyo estudio se observó un incremento tardío en los niveles de ghrelina, alcanzando su pico máximo hasta los 120 minutos, con disminución progresiva muy cercana a sus niveles basales hasta los 240 minutos. En el caso de Steinert (44), por el contrario, no se observan tendencias relevantes ni diferencias significativas en la ghrelina. Debido al efecto orexigénico de la ghrelina, un incremento en los niveles séricos de la hormona puede incrementar la respuesta de apetito y, en consecuencia, incrementar el peso corporal (68). Adicionalmente, la ghrelina disminuye la oxidación de los lípidos y su consumo como fuente de energía, por lo que esto, aunado al incremento de la ingesta puede incrementar el riesgo de sobrepeso y obesidad entre quienes consumen habitualmente la bebida estudiada. Finalmente, el comportamiento de la leptina y polipéptido pancreático posterior a aspartame / acesulfame K fue muy similar al agua mineral, lo cual era esperado dada la ausencia de un componente energético.

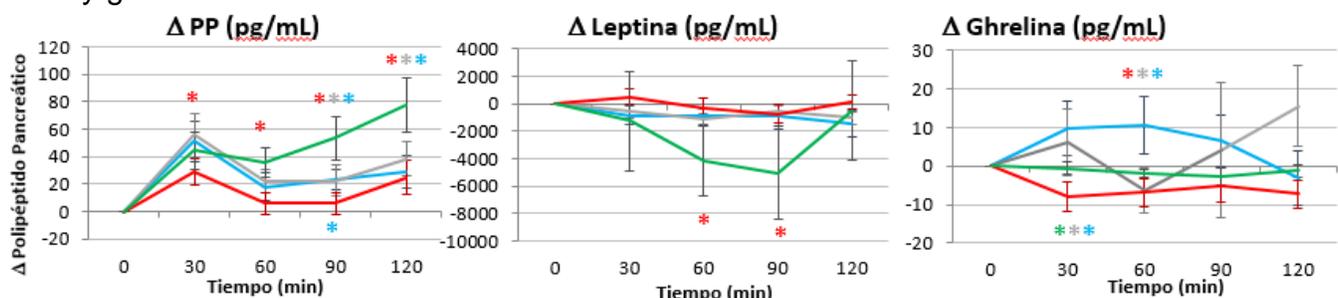
11.3 REFRESCO ENDULZADO CON SACAROSA / STEVIA

Se observó supresión en los niveles de glucosa de 12.5mg/dl por debajo del basal posterior al consumo del refresco endulzado con sacarosa /stevia en el minuto 60, seguido de una recuperación paulatina. Dicho resultado es consistente con estudios previos que han reportado un efecto hipoglucemiante posterior a la ingesta de stevia en diferentes presentaciones: Anton (60) observó niveles de glucosa significativamente inferiores en la precarga que contenía stevia, en comparación con la que contenía aspartame a los 20 minutos, manteniendo dicha inferioridad durante los 120 minutos del seguimiento. En el estudio de Gregersen (51) se incluyeron sujetos con DM2, y se les ofreció 1g de stevia encapsulado o almidón como control. Se observó una reducción de la glucosa postprandial en un 18% que fue estadísticamente significativa. Pallarés (52) por su parte, realizó un estudio en el que también incluyó pacientes con DM2, y encontró una tendencia negativa de

los niveles de glucosa posterior a la ingestión de 4g de stevia. Los resultados de Tey (64) en sujetos sanos, no mostraron diferencias significativas en los niveles de glucosa posteriores al stevia y los otros tratamientos, o en comparación con su basal, durante los primeros 60 minutos del seguimiento. Cabe destacar que en los estudios mencionados se administró stevia a dosis superiores a la utilizada en nuestro estudio, y sin carbohidratos añadidos. Este es el primer estudio en identificar un efecto hipoglucemiante de stevia combinada con una porción de sacarosa y los resultados sugieren un efecto interactivo entre el edulcorante nutritivo y el no nutritivo.

Con respecto a la respuesta hormonal, se observó un pico en los niveles de insulina a los 30 minutos, que fue significativamente inferior a la sacarosa, y es proporcional a la porción de sacarosa contenida en la formulación. En cuanto a GLP-1, se observó el incremento esperado a los 30 minutos posterior a la bebida endulzada con sacarosa / stevia, consistente con estudios previos (31,44,46) y biológicamente coherente dada la porción de carbohidrato contenida en la presentación.

Figura 16. Diferencias con respecto al basal (Δ) en polipéptido pancreático, leptina y ghrelina



* Diferencias con el agua mineral, * diferencias con el refresco con aspartame / acesulfame K, * diferencias con el refresco endulzado con sacarosa, y * diferencias con el refresco endulzado con sacarosa / stevia (p<0.05 en todos los casos)

En los resultados de polipéptido pancreático, se observó un incremento posterior al consumo de la bebida con sacarosa / stevia, que fue estadísticamente diferente a la sacarosa en los minutos 30 y 60, y a todos los tratamientos en los minutos 90 y 120. El presente es el primer estudio en identificar un incremento

estadísticamente significativo en el polipéptido pancreático posterior al consumo de stevia. Es posible que el declive en los niveles de glucosa en el minuto 60 haya provocado el incremento de la hormona ya que esta se ve incrementada ante episodios de hipoglucemia, principalmente cuando son provocados por la administración de insulina (30). Dicho péptido influye directamente la secreción endócrina y exócrina del páncreas (25), por lo que un incremento importante puede tener impacto en la secreción de insulina y glucagon, sin embargo, los niveles de ambas hormonas no se vieron modificados por stevia. Adicionalmente, el polipéptido pancreático inhibe la secreción de insulina y se ha observado modificación de la expresión de neuropéptidos, disminuyendo la ghrelina (29), cuyo efecto tendría impacto directo en la ingesta alimentaria.

Se observó una pronunciada disminución de la leptina que alcanzó 5.027pg/ml por debajo de su basal a los 90 minutos, a diferencia del resto de los tratamientos que se mantuvieron estables los 120 minutos, y fue significativamente inferior a la sacarosa en los minutos 60 y 90. Dicho resultado es inesperado ya que los niveles de leptina no son modificados en agudo en respuesta a la ingesta de alimentos y es necesario un ayuno prolongado para que los niveles declinen en un 30% (69). Es posible que el incremento de polipéptido pancreático guarde relación con la con los cambios observados en la leptina, ya que se ha reportado que la administración periférica de dicho péptido disminuye los niveles de leptina (29). En nuestros resultados, se observa simultáneamente un incremento en los niveles de polipéptido pancreático y supresión de los niveles de leptina (figura 13) que, en efecto conjunto, podrían tener impacto en el desempeño de la insulina (67) la estabilidad de la glucosa, el vaciamiento gástrico, el tránsito intestinal, y en la expresión, secreción y actividad de otros péptidos sobre la respuesta hormonal posterior a la ingesta (67). Adicionalmente, La disminución de la leptina (69), promueve una señal orexigénica poderosa, disminuye el gasto energético y altera la homeostasis de la glucosa, por lo que se ha vinculado dicho péptido con el desarrollo de obesidad. Por lo tanto, el consumo prolongado del refresco con sacarosa / stevia podría incrementar la ingesta calórica y disminuir el gasto

energético, aumentando el riesgo de obesidad y alteración de la homeostasis de la glucosa.

Éste es el primer estudio que explora la respuesta en la leptina posterior a la ingestión de una bebida endulzada con sacarosa y stevia combinadas. Debido al periodo de observación, no es posible concluir los efectos de la alteración identificada en leptina y polipéptido pancreático en el mediano plazo sobre la ingesta, el metabolismo de la glucosa o el balance energético. Aunado a esto, la extrapolación de nuestros resultados al consumo de stevia sola o en otras presentaciones resulta limitado, ya que es probable que los resultados observados dependan de un efecto sinérgico entre la sacarosa y el stevia. Es necesaria mayor investigación que permita elucidar los efectos del consumo de stevia por sí sola y las consecuencias del consumo prolongado a un mediano plazo en el metabolismo de la glucosa y la respuesta hormonal.

12. DEBILIDADES Y FORTALEZAS

Dentro de las debilidades observadas en el presente estudio se puede mencionar un tamaño de muestra pequeño, que, aunque es superior al utilizado en estudios antecedentes, pudo influir en la normalidad de los datos. El estudio explora los efectos del consumo de refrescos durante los primeros 120 minutos posteriores a la ingesta, y es posible que se requiera un seguimiento más amplio para comprender el impacto de dichos efectos y los cambios observados sobre la salud metabólica. Los resultados de interés no representan desenlaces en la salud de las personas, ya que el propósito fue estudiar el comportamiento agudo de la glucosa y los mecanismos que la regulan a fin de identificar cambios relevantes, que contribuyan a generar modelos explicativos que permitan una mejor comprensión de los efectos del consumo de refrescos. Adicionalmente, la amplitud en la dispersión de los datos en el presente estudio es un factor que debe ser considerado en investigaciones posteriores, a fin de incrementar la precisión y establecer resultados más confiables.

Dentro de las fortalezas del presente estudio, se utilizó un diseño cruzado en el que cada sujeto fue su propio control, con lo cual se elimina la incertidumbre al comparar grupos independientes y disminuye la participación de confusores en la expresión de resultados. Dado que existen múltiples factores (por ejemplo: el estrés, los patrones alimenticios, la genética, la actividad física, el estado emocional, etc.) que pueden modificar la respuesta hormonal, el diseño cruzado es la mejor opción. Se trata de la primera investigación en nuestro país que explora la respuesta enteroendócrina, adipocitaria y pancreática posterior a la ingesta de diferentes tipos de refresco, los resultados encontrados resultan de suma relevancia para la integración de propuestas con respecto al consumo de dichas bebidas en población sana, y permiten la generación de nuevas líneas de investigación que exploren los efectos del consumo de refrescos sobre la homeostasis de la glucosa y la respuesta hormonal en individuos con alteraciones metabólicas como obesidad o diabetes.

13. CONCLUSIONES

Con los resultados del presente estudio, podemos concluir que el aspartame, el acesulfame K y el stevia son componentes metabólicamente activos y su ingestión tiene efectos significativos en la respuesta de diferentes hormonas que participan en la homeostasis de la glucosa y la regulación del apetito. Sus efectos pueden alterar la respuesta hormonal, y, en consecuencia, podrían incrementar el apetito y la ingesta, disminuir el gasto energético y modificar la producción de insulina, incrementando los riesgos de obesidad y diabetes.

Debido a los cambios hormonales identificados y su potencial impacto en la homeostasis energética, se recomienda el consumo moderado de las bebidas que contienen los ENN estudiados y se sugiere mayor investigación considerando los efectos a mediano plazo y la inclusión de sujetos con obesidad, diabetes y adolescentes como importantes focos de atención.

14. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio se realizó en individuos adultos sanos que aceptaron participar voluntariamente. Se solicitó la firma del consentimiento informado, previa explicación de los objetivos y procedimientos, así como los potenciales riesgos y beneficios considerados dentro del estudio.

El estudio se ubica dentro de la clasificación de riesgo mayor al mínimo, debido a la obtención de productos sanguíneos, en un volumen de 10-20ml por día, con un máximo de 80ml en un periodo de 4 semanas.

Las bebidas utilizadas en la intervención han sido consideradas seguras para el consumo humano por autoridades sanitarias nacionales e internacionales, y fueron administradas en dosis inferiores a los valores recomendados para la ingesta diaria admisible (IDA).

Los participantes que presentaron efectos adversos asociados a las bebidas o a la colocación del catéter para la toma de productos sanguíneos, fueron atendidos de forma oportuna y excluidos del ensayo para garantizar su seguridad. Asimismo, la información obtenida de los participantes y los resultados de las pruebas de laboratorio fueron manejados con apego a la ética, manteniendo estricta confidencialidad de los datos. Se dio a conocer a los participantes los resultados de sus pruebas de laboratorio y se les dará a conocer los resultados del estudio en cuanto estén disponibles.

15. BIBLIOGRAFÍA

1. Secretaria de Salud. Ensanut 2016. 2016;2016(Ensanut):1–151. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/209093/ENSANUT.pdf>
2. Ortiz-Hernández L, Delgado-Sánchez G, Hernández-Briones A. Cambios en factores relacionados con la transición alimentaria y nutricional en México. *Gac Med Mex.* 2006;142(3):181–93.
3. Euromonitor [Internet]. Euromonitor international's passport global market. 2011. Disponible en: <http://www.euromonitor.com/soft-drinks-in-mexico/report>. [cited 2018 September 18].
4. Bremer AA, Mietus-Snyder M, Lustig RH. Toward a Unifying Hypothesis of Metabolic Syndrome. *Pediatrics.* 2012;129(3):557–70.
5. Swithers SE, Martin AA, Davidson TL. High-intensity sweeteners and energy balance. *NIH Public Access.* 2011;100(1):55–62.
6. Bray GA, Hu FB, Willett WC, Popkin BM, Despres J-P, Malik VS. Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: A meta-analysis. *Diabetes Care.* 2010;33(11):2477–83.
7. Vartanian LR, Schwartz MB, Brownell KD. Effects of soft drink consumption on Nutrition and Health: A systematic review and meta-analysis. *Fram Heal Matters.* 2007;97(4):667–77.
8. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA.* 2004;292(8):927–34.
9. Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF, et al. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation* 2007;116:480-8.
10. Hazuda HP, Stern MP, Fowler SP, Hunt KJ, Williams K, Resendez RG. Fueling the obesity epidemic? artificially sweetened beverage use and long-

term weight gain. *Obesity*. 2008;16(8):1894–900.

11. Food and Drugs Administration [Internet]. Additional information about high-intensity sweeteners permitted for use in food in the United States. Disponible en:
<https://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/foodadditivesingredients/ucm397725.html>.
12. Calzada-Leon R, Ruiz-Reyes M, Altamirano-Bustamante N. Características de los edulcorantes no calóricos y su uso en niños. *Acta Pediatr Mex*. 2013;3434(3):141–53.
13. World Health Organization. Aspartame [Internet]. Evaluations of the joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA). Disponible en:
<http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=62>.
14. Magnuson BA, Burdock GA, Doull J, Kroes RM, Marsh GM, Pariza MW, et al. Aspartame: A safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. *Crit Rev Toxicol*. 2007;37(8):629–727.
15. SERNAC. Estudio comparativo del contenido de cafeína, edulcorantes y aporte de calorías de las bebidas cola comercializadas en Santiago. 2004. 8. INE. National Household Surveys on Food Expenditure. 2008.
16. World Health Organization. Acesulfame Potassium [Internet]. Evaluations of the joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA). Disponible en: <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=926> 13.
17. Diario Oficial de la Federación [Internet]. Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. Disponible en:
http://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5259470.

18. Rudenga KJ, Small DM. Amygdala response to sucrose consumption is inversely related to artificial sweetener use. *Appetite*. 2012;58(2):504–7.
19. Frank GKW, Oberndorfer TA, Simmons AN, Paulus MP, Fudge JL, Yang TT, et al. Sucrose activates human taste pathways differently from artificial sweetener. *Neuroimage*. 2008;39(4):1559–69.
20. Green E, Murphy C. Altered processing of sweet taste in the brain of diet soda drinkers. *Physiol Behav*. 2012;107(4):560–7.
21. Smeets PAM, Erkner A, De Graaf C. Cephalic phase responses and appetite. *Nutr Rev*. 2010;68(11):643–55.
22. Posovszky C, Wabitsch M. Regulation of appetite, satiation, and body weight by enteroendocrine cells. Part 1: Characteristics of enteroendocrine cells and their capability of weight regulation. *Horm Res Paediatr*. 2015;83(1):1–10.
23. Kleinridders A, Ferris HA, Cai W, Kahn CR. Insulin action in brain regulates systemic metabolism and brain function. *Diabetes*. 2014;63(7):2232–43.
24. Newsholme P, Cruzat V, Arfuso F, Keane K. Nutrient regulation of insulin secretion and action. *J Endocrinol*. 2014;221(3).
25. Meek CL, Lewis HB, Reimann F, Gribble FM, Park AJ. Peptides The effect of bariatric surgery on gastrointestinal and pancreatic peptide hormones. *Peptides*. 2016;77:28–37.
26. Kasuga M. Insulin resistance and pancreatic beta cell failure. *J Clin Invest*. 2006;116:1756-60.
27. Campbell JE, Drucker DJ. Islet α cells and glucagon-critical regulators of energy homeostasis. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11(6):329–38.
28. Lee YH, Wang M, Yu X, Unger RH. Glucagon is the key factor in the development of diabetes. *Diabetologia*. 2016;10–3.
29. Constance C. What is Pancreatic Polypeptide and what does it do? 2017;7. Disponible en:

<https://www.nottingham.ac.uk/biosciences/documents/burn/2015/pancreatic-polypeptide.pdf>

30. Tiscornia OM, Negri GA, Otero G, et al. Pancreatic polypeptide: a review of its involvement in neuro-endocrine reflexes, islet-acinar interactions and ethanol-evoked physiopatologic pancreatic gland changes. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2015;45(2):155-64.
31. 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;296(4):G735-9.
32. Hansotia T, Drucker DJ. GIP and GLP-1 as incretin hormones: Lessons from single and double incretin receptor knockout mice. *Regul Pept*. 2005;128(2):125–34.
33. Asmar M. New physiological effects of the incretin hormones. *Dan Med Bull*. 2011;58(2):1–19.
34. Meier JJ. The contribution of incretin hormones to the pathogenesis of type 2 diabetes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2009;23:433-441.
35. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of Incretins : GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*.2007;2131–57.
36. Drucker DJ. Biological actions and therapeutic potential of the glucagon-like peptides. *Gastroenterology*. 2002;122(2):531–44.
37. Flint A, Raben A, Astrup A, Holst JJ. Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *J Clin Invest*. 1998;101(3):515–20.
38. Näslund E, Morgan LM, Long SJ, Hellström PM, Gutzwiller J-P, Verdich C, et al. A meta-analysis of the effect of Glucagon-Like Peptide-1 (7–36) amide on ad libitum energy intake in humans . *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;86(9):4382–9.

39. Fasshauer M, Blüher M. Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci.* 2015;36(7):461–70.
40. Flak JN, Myers MG. Minireview: CNS Mechanisms of Leptin Action. *Mol Endocrinol.* 2015;30(1):3–12.
41. Otto-Buczowska E, Chobot A. Role of ghrelin and leptin in the regulation of carbohydrate metabolism. Part II. Leptin. *Postepy Hig Med Dosw* 2012;26;66:799-803.
42. Le Roux CW, Batterham RL, Aylwin SJB, Patterson M, Borg CM, Wynne KJ, et al. Attenuated peptide YY release in obese subjects is associated with reduced satiety. *Endocrinology.* 2006;147(1):3–8.
43. Viardot A, Heilbronn LK, Herzog H, Gregersen S, Campbell L V. Abnormal postprandial PYY response in insulin sensitive nondiabetic subjects with a strong family history of type 2 diabetes. *Int J Obes.* 2008;32:943-8.
44. Steinert RE, Frey F, Tpfers 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.
45. 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.
46. Maersk M, Belza A, Holst JJ, Fenger-Grøn M, Pedersen SB, Astrup A, et al. Satiety scores and satiety hormone response after sucrose-sweetened soft drink compared with isocaloric semi-skimmed milk and with non-caloric soft drink: A controlled trial. *Eur J Clin Nutr.* 2012;66(4):523–9.
47. Olalde-Mendoza L, Moreno-González YE. Modification of fasting blood glucose in adults with diabetes mellitus type 2 after regular soda and diet soda intake in the State of Querétaro, Mexico. *Arch Latinoam Nutr.* 2013;63(2):142–7.
48. Horwitz DL, McLane M, Kobe P. Response to single dose of aspartame or

- saccharin by NIDDM patients. *Diabetes Care*. 1988;11(3):230–4.
49. Okuno G, Kawakami F, Tako H, Kashihara T, Shibamoto S, Yamazaki T, et al. Glucose tolerance, blood lipid, insulin and glucagon concentration after single or continuous administration of aspartame in diabetics. *Diabetes Res Clin Pract*. 1986;2(1):23–7.
 50. Härtel B, Graubaum H, Schneider B. The influence of sweetener solutions on the secretion of insulin and the blood glucose level. *Ernährungsumschau*. 1993;40(4):152–5.
 51. Gregersen S, Jeppesen PB, Holst JJ, Hermansen K. Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism*. 2004;53(1):73–6.
 52. Pallarés Á, Carrasco G, Nava Y, Pallarés O, Pérez I, Rifá R, et al. Effectiveness and safety of *Stevia rebaudiana* dried leaves as an adjuvant in the short-term treatment of type 2 diabetes: A randomized, controlled, cross-over and double-blinded trial. *Jmpht*. 2015;3:16–26.
 53. 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;19(9):1004–5.
 54. Bryant CE, Wasse LK, Astbury N, Nandra G, McLaughlin JT. Non-nutritive sweeteners: No class effect on the glycaemic or appetite responses to ingested glucose. *Eur J Clin Nutr*. 2014;68(5):629–31.
 55. 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.
 56. 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.
57. Brown RJ, Walter M, Rother KI. Ingestion of diet soda before a glucose load augments GLP-1 secretion. *Diabetes Care.* 2009;32(12):2184–6.
 58. Brown RJ, Walter M, Rother KI. Effects of diet soda on gut hormones in youths with diabetes. *Diabetes Care.* 2012;35(5):959–64.
 59. 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;104(6):803–6.
 60. Anton SD, Martin CK, Han H, Coulon S, Cefalu WT, Geiselman P, et al. Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite.* 2010;55(1):37–43.
 61. Wu T, Zhao B, Bound M, Checklin HL, Bellon M, Little TJ, et al. Effects of different sweet preloads on incretin hormone responses, gastric emptying and postprandial glycaemia in healthy humans. *Diabetologia.* 2011;54(4):S330.
 62. Hall WL, Millward DJ, Rogers PJ, Morgan LM. Physiological mechanisms mediating aspartame-induced satiety. *Physiol Behav.* 2003;78(4–5):557–62.
 63. 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.
 64. Tey SL, Salleh NB, Henry J, Forde CG. Effects of aspartame-, monk fruit-, stevia- and sucrose-sweetened beverages on postprandial glucose, insulin and energy intake. *Int J Obes.* 2017;41(3):450–7.
 65. Lefèbvre PJ, Paquot N, Scheen AJ. Inhibiting or antagonizing glucagon: Making progress in diabetes care. *Diabetes, Obes Metab.* 2015;17(8):720–5.
 66. Meier JJ, Kemmeries G, Holst JJ, Nauck MA. Erythromycin antagonizes the deceleration of gastric emptying by glucagon-like peptide 1 and unmasks its

insulinotropic effect in healthy subjects. *Diabetes*. 2005;54(7):2212–8.

67. Seufert J. Leptin effects on pancreatic beta-cell gene expression and function. *Diabetes*. 2004;53 Suppl 1:S152–8.
68. Foster-Schubert KE, Overduin J, Prudom CE, Liu J, Callahan HS, Gaylann BD, et al. Acyl and total ghrelin are suppressed strongly by ingested proteins, weakly by lipids, and biphasically by carbohydrates. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(5):1971–9.
69. Sinha MK, Caro JF. Clinical aspects of leptin. *Vitam Horm*. 1998;54:1–30.

16. ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado

Respuesta hormonal enteroendócrina, pancreática y adipocitaria posterior a la ingesta de tres tipos diferentes de refresco de cola. Ensayo clínico aleatorizado cruzado

Durante los meses de mayo y junio del 2015, usted colaboró con nosotros en el proyecto titulado: *Respuesta en las sensaciones de apetito / saciedad y los niveles de glucosa e insulina posterior a la ingesta de tres tipos diferentes de refresco de cola. Ensayo clínico aleatorizado cruzado (HIM2015/061)*. En dicho protocolo obtuvimos su consentimiento por escrito para la toma de muestras de sangre con el objetivo de medir los niveles de glucosa e insulina. Los resultados de sus niveles de glucosa se los hemos dado a conocer de forma oportuna; sin embargo, los niveles de insulina no se han podido analizar debido a que los insumos de laboratorio para su medición se encuentran en proceso de compra, motivo por el cual las muestras de suero se mantienen en resguardo en el Laboratorio Central del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

En esta ocasión deseamos analizar otras sustancias químicas que intervienen en la regulación del hambre y los niveles de glucosa (azúcar) en el cuerpo. Por tal motivo nos dirigimos a usted para solicitar su autorización para que de los mismos sueros en los que se medirán los niveles de insulina, se midan otras sustancias como: glucagon, GLP1, leptina, ghrelina, tirosina y PYY. Estas mediciones nos ayudarán a identificar otras respuestas del organismo posterior al consumo de bebidas gasificadas e identificar ventajas y desventajas de su consumo.

Cabe resaltar que para esta fase del estudio NO se requerirán nuevas muestras de sangre ya que para analizarlas se utilizarán los sueros que se encuentran en resguardo. Al igual que en la fase previa, por participar en este estudio no recibirá ninguna compensación monetaria y usted podrá obtener como beneficio información sobre los niveles de estas hormonas medidos en sus muestras de sangre.

Al término de la investigación escribiremos un reporte con la información obtenida en el cual no aparecerá su nombre y los resultados serán confidenciales.

Durante el estudio, el investigador responsable del mismo responderá a cualquier duda que tenga acerca de los procedimientos y resultados del estudio. Su participación es totalmente voluntaria y una vez aceptada ésta se puede cancelar en cualquier momento, sin que por ello se afecta su relación con el personal del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Si usted está de acuerdo en que sus muestras de suero se utilicen para realizar estas nuevas mediciones, le solicitamos anote sus datos y firme el siguiente consentimiento:

Yo, _____ acepto de forma voluntaria participar en el estudio de investigación. He leído de forma cuidadosa este documento y entiendo todo lo que implica, además de que se me ha asegurado que las muestras de sangre que se tomen serán utilizadas únicamente con los fines propuestos en esta investigación y que los resultados me serán notificados y serán totalmente confidenciales. En caso de que el participante no sepa escribir se colocará la huella digital.

ACEPTO: _____ SÍ _____ NO

Nombre y Firma del Participante

Dirección: _____

Dra. América Liliana Miranda Lora

Investigadora responsable

Dirección: Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Dr. Márquez, #162, Col. Doctores. CP 06720. México

DF.

Teléfono (55) 52 28 99 17 ext. 4304

Nombre y firma testigo 1

Dirección: _____

Relación con el participante: _____

Nombre y firma testigo 1

Dirección: _____

Relación con el participante: _____

Anexo 2. Hoja de recolección de datos

Fecha del estudio: _____ Nombre: _____

Edad: _____ (años) Fecha de nacimiento: _____ Sexo: 1. Hombre 2. Mujer

¿Tiene alguna enfermedad crónica? 0. No 1. Sí En caso de responder que sí especifique: _____

¿Está tomando algún medicamento? 0. No 1. Sí En caso de responder que sí especifique: _____

Fecha de última menstruación: _____

Parámetro	Agua mineral					Refresco de cola 1					Refresco de cola 2					Refresco de cola 3				
	0'	30'	60'	90'	120'	0'	30'	60'	90'	120'	0'	30'	60'	90'	120'	0'	30'	60'	90'	120'
ANTROPOMETRÍA																				
Peso (kg)																				
Talla (cm)																				
Circunferencia de cintura (cm)																				
SIGNOS VITALES																				
Tensión arterial																				
Frecuencia cardiaca																				
Frecuencia respiratoria																				
Temperatura																				
RESULTADOS DE LABORATORIO																				
Glucosa (mg/dL)																				
Insulina (μ UI/ml)																				
Glucagon (pg/ml)																				
GLP-1 (pM)																				
PYY (pg/ml)																				
Leptina (ng/ml)																				
ghrelina (pg/ml)																				