



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

FACULTAD DE QUÍMICA

INVESTIGACIÓN CLÍNICA EXPERIMENTAL EN SALUD

**EFECTO DE LA INGESTIÓN AGUDA DE SUCRALOSA SOBRE LA TOLERANCIA A LA
GLUCOSA Y LAS SUBPOBLACIONES DE MONOCITOS EN ADULTOS JÓVENES
SANOS.**

T E S I S

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS**

PRESENTA

M.C. ANGÉLICA YUNUEL GÓMEZ ARAUZ

TUTOR PRINCIPAL:

DR. EUSTACIO GALILEO ESCOBEDO GONZÁLEZ
Facultad de Medicina, UNAM.

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

DRA. SONIA ANDREA LEÓN CABRERA
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

DR. JOSÉ MANUEL FRAGOSO LUNA
Facultad de Medicina, UNAM.

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX. 03 de Mayo de 2022.



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.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Posgrado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud de la Universidad Nacional Autónoma de México por formarme como Maestra en Ciencias. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México por la beca otorgada durante el desarrollo de la Maestría (CVU: 779561). Además agradezco a los estimados miembros de mi comité tutorial: Dr. Eustacio Galileo Escobedo González, Dra. Sonia Andrea León Cabrera y Dr. José Manuel Fragoso Lona por su paciencia, comprensión, apoyo y valiosos consejos durante una de las etapas más formativas y representativas de mi vida académica.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL.

Le agradezco a mis padres, por su apoyo incondicional, por ser mi mayor ejemplo a seguir, mi orgullo y admiración, por ser la fuerza que me mantiene en constante crecimiento personal y profesional. Agradezco por cada consejo, cada palabra de aliento, por su amor, comprensión, dedicación y esfuerzo ya que sin ellos, no hubiese culminado esta etapa tan importante de mi vida profesional con éxito. No me queda más que agradecer a todas aquellas personas que de una u otra forma me apoyaron para alcanzar este objetivo y gracias a Dios por permitirme compartir este logro, con el tesoro más grande que tengo en la vida: MI FAMILIA.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
ANTECEDENTES.....	3
Obesidad y enfermedades metabólicas	3
Fisiopatología de la obesidad y sus complicaciones metabólicas	3
Edulcorantes artificiales no calóricos.....	5
Sucralosa	6
Sucralosa y secreción de hormonas metabólicas.....	7
Sucralosa y su relación con marcadores de inflamación.....	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	8
JUSTIFICACIÓN.....	8
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	9
HIPÓTESIS.....	9
OBJETIVOS	9
METODOLOGÍA	10
Diseño experimental y muestra de estudio.....	10
Mediciones antropométricas y bioquímicas.....	11
Curva de tolerancia oral a la glucosa con y sin exposición aguda previa de sucralosa	11
Determinación de la concentración sérica de glucagón, péptido C, GIP y GLP-1	11
Cuantificación de las subpoblaciones de monocitos por citometría de flujo para la	12
Análisis estadístico	13
RESULTADOS	13
Características generales de la muestra de estudio.....	13
Niveles sanguíneos de glucosa e insulina durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa	13
Subpoblaciones de monocitos antes y al final de la prueba de tolerancia oral a la glucosa	14
Asociación de las concentraciones de glucosa e insulina con las subpoblaciones de monocitos antes y al final de la prueba de tolerancia oral a la glucosa	16
Concentración de glucagón, péptido C, GIP y GLP-1 antes y durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa.....	16
DISCUSIÓN	17

CONCLUSIONES	20
REFERENCIAS	21

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Características generales de la muestra de estudio.....	14
Tabla 2. Correlación de las concentraciones de glucosa e insulina con las subpoblaciones de monocitos.....	16

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Niveles sanguíneos de glucosa A) e insulina B) durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa.....	15
Figura 2. Subpoblaciones de monocitos antes y al final de la prueba de tolerancia oral a la glucosa.....	15
Figura 3. Concentración de A) glucagón, B) péptido C, C) GIP y D) GLP-1 antes y durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa.....	17

RESUMEN

Introducción. Es bien sabido que las dietas hipercalóricas son un factor determinante para el desarrollo de la obesidad y sus complicaciones metabólicas. En particular, la ingesta de edulcorantes calóricos o nutritivos. En este sentido, el consumo de productos alimenticios que contienen alternativas sin calorías (edulcorantes artificiales no calóricos) se ha vuelto cada vez más popular. Sin embargo, estudios recientes relacionan un estado de intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina con el consumo crónico de algunos de estos edulcorantes que se encuentran disponibles en el mercado, como es el caso de la sucralosa. Por lo tanto, es necesario evaluar si el consumo agudo de sucralosa se asocia con intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina, así como en la secreción de hormonas metabólicas y si existe un efecto sobre las subpoblaciones de monocitos así como sobre su capacidad inflamatoria y migratoria para generar evidencia científica que sirva de base para emitir recomendaciones fiables sobre el uso habitual de edulcorantes no calóricos en nuestra población. **Metodología.** Cuarenta y cinco adultos sanos de ambos sexos fueron incluidos en este ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, placebo-controlado para analizar el efecto de la exposición aguda de sucralosa sobre la respuesta de glucosa, insulina, glucagón, péptido C e incretinas (GIP y GLP-1) a una curva de tolerancia a la glucosa (OGTT, por sus siglas en inglés) de 180 minutos y su posible relación con los porcentajes de monocitos clásicos, intermedios y no clásicos que expresan CD11c y CD206. **Resultados.** Aunque los valores de glucosa no mostraron diferencias significativas entre los grupos de placebo y sucralosa a lo largo de la OGTT, se encontró que la ingesta de sucralosa antes de la OGTT se asocia con un aumento significativo de 1.3 veces en los niveles séricos de insulina a los 30 minutos, en comparación con los sujetos que bebieron agua como placebo ($p= 0.032$). Además, se encontró que, Al final de la OGTT, mientras el porcentaje de monocitos clásicos aumentó significativamente 7% ($p= 0.0019$) en el grupo de sucralosa el porcentaje de monocitos no clásicos se redujo significativamente 63% ($p < 0.0001$) en comparación con el grupo control (Figura 2e). Se reporta también que, en el grupo de sucralosa, la concentración de insulina sérica se asocia positivamente con los monocitos clásicos ($r = 0.41$, $p = 0.02$), y negativamente con los monocitos no clásicos ($r = -0.42$, $P = 0.01$) al final de la OGTT. Además, se evidenció que el grupo de sucralosa presentó concentraciones significativamente menores de glucagón a los 30 y 60 minutos en comparación con el grupo placebo ($P_{30 \text{ minutos}} = 0.002$; $P_{60 \text{ minutos}} = 0.011$; Figura 3A). El presente trabajo demuestra que un solo sorbo de sucralosa durante una OGTT aumenta los niveles séricos de insulina en adultos jóvenes

sanos. El consumo de sucralosa no solo se relacionó con niveles elevados de insulina, sino también con una mayor proporción de monocitos clásicos y un porcentaje reducido de monocitos no clásicos. **Conclusiones.** Los resultados del presente trabajo podrían impactar en el tratamiento y control de pacientes con DT2 que presentan una secreción de insulina deficiente y pacientes con obesidad y resistencia a la insulina, ya que sin conocer el efecto potencialmente dañino a largo plazo de edulcorantes artificiales calóricos sobre el metabolismo de la insulina, se piensa que el consumo de sucralosa podría reducir la glucemia y la ingesta de calorías.

ANTECEDENTES

Obesidad y enfermedades metabólicas

La obesidad es una enfermedad crónica multifactorial caracterizada por una cantidad excesiva de grasa corporal como consecuencia de la interacción entre un estilo de vida sedentario y una mayor ingesta de energía. Actualmente es un problema global de salud, ya que en las últimas cuatro décadas su prevalencia se ha triplicado en todo el mundo. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), al 2016 se estimaron más de 1,900 millones de adultos con sobrepeso y obesidad (www.who.int/). La obesidad está aumentando en todas las regiones del mundo y hasta el momento ningún país, con alto, medio o bajo desarrollo, ha tenido éxito en evitar que su prevalencia siga aumentando. Como ejemplo, al 2019 México ocupaba el primero y segundo lugar mundial de obesidad infantil y en adultos, respectivamente (www.unicef.org/mexico/). En 2020, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) de México informó una prevalencia de obesidad de 18.6%, 17.0%, y 40.2% en niños de 5 a 11 años, adolescentes de 12 a 19 años, y adultos, respectivamente[1]. Estas prevalencias resultan alarmantes debido a que la obesidad infantil se ha descrito como principal predictor de obesidad y complicaciones metabólicas en el adulto[2].

La obesidad se asocia con enfermedades metabólicas de inicio temprano (como hipertensión, insulinoresistencia, dislipidemia, diabetes tipo 2 [DT2], hígado graso no alcohólico, enfermedad cardiovascular, entre otras) y mortalidad prematura por todas las causas[3, 4]. De hecho, la obesidad se considera como el principal factor de riesgo para desarrollar DT2, debido a que 80% de los niños y adultos con DT2 presentó sobrepeso u obesidad al momento de su diagnóstico[5, 6].

Fisiopatología de la obesidad y sus complicaciones metabólicas

El tejido adiposo humano se divide en marrón y blanco, el primero es responsable de la actividad termogénica, mientras que el segundo (se distribuye a nivel subcutáneo y visceral) se encarga de almacenar grasa corporal y secretar proteínas de señalización que ejercen efectos metabólicos y antiinflamatorios (leptina, neuropéptido Y [NPY], adiponectina y factor de necrosis tumoral α [TNF α]). Mientras que en condiciones de exceso de energía el tejido adiposo blanco almacena el exceso de nutrientes en forma de lípidos neutros, en condiciones de déficit provee nutrientes a otros tejidos a través de lipólisis.

En el exceso de energía el tejido adiposo blanco presenta hipertrofia e hiperplasia. Primero, los adipocitos se hipertrofian y secretan hormonas y citocinas paracrinas que facilitan el reclutamiento y diferenciación de preadipocitos para almacenar el exceso de nutrientes (hiperplasia)[7]. Sin embargo, el tejido tiene un límite de expansión que cuando se alcanza, pierde funcionalidad y su capacidad de expandirse[8, 9]. La razón de la pérdida de plasticidad celular en el tejido adiposo se debe a la acumulación de especies reactivas de oxígeno, derivadas de macrófagos, en respuesta a la inflamación causada por la hipertrofia y/o muerte de los adipocitos disfuncionales[10]. De esta manera, el tejido adiposo sólo tiene la capacidad de almacenar el exceso de grasa a través de la hipertrofia de sus células, causando lipotoxicidad, inflamación, hipoxia, secreción alterada de adipocinas y disfunción mitocondrial que contribuye al desarrollo de insulinoresistencia y mayor riesgo de DT2 y enfermedades metabólicas [11]. Además, la acumulación de grasa en los tejidos ectópicos como el hígado, músculo esquelético, corazón y depósitos viscerales conduce a inflamación local e insulinoresistencia y en el páncreas se produce el reclutamiento de macrófagos, incrementando el estrés oxidativo que contribuye a la disfunción de la célula β y reducción de la secreción de insulina[12].

Independientemente de la inflamación del tejido, en los adipocitos hipertróficos el exceso de lípidos en citoplasma provoca alteración en los transportadores de glucosa tipo 4 (GLUT4) que conlleva al desarrollo de resistencia a la insulina[12]. También, durante la hipertrofia del adipocito se promueve la inflamación local y sistémica a través del reclutamiento de macrófagos y células T, mediante la secreción de las principales citocinas proinflamatorias como el TNF- α , interleucina-6 (IL-6) y proteína quimioatrayente de monocitos1 (MCP-1)[12].

TNF- α contribuye al desarrollo de insulinoresistencia a través de la inhibición de la síntesis de adiponectina[13]. También interfiere en la fosforilación de residuos de tirosina en el primer sustrato de la cadena beta del receptor de insulina (IRS-1 por sus siglas en inglés) reduciendo la movilización de GLUT-4 y la entrada de glucosa en las células[13]. Además, activa a el factor nuclear κ B (NF- κ B por sus siglas en inglés) resultando en una mayor expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales y músculo liso vascular, lo que incrementa la inflamación del tejido adiposo y la disfunción endotelial, que finalmente lleva a la formación de la placa ateromatosa[14]. La IL-6 producida por macrófagos y adipocitos incrementa su producción durante la hipertrofia, lo cual favorece el aumento de la síntesis de proteínas de fase aguda como proteína C reactiva en células hepáticas y reduce la actividad de la lipoproteína lipasa y la secreción

de adiponectina en el adipocito, contribuyendo así al desarrollo de resistencia a la insulina[15]. El aumento de lípidos en el citoplasma del adipocito también incrementa la concentración de MCP-1, promoviendo una mayor acumulación de macrófagos en el tejido adiposo. Otra vía de desarrollo de inflamación y resistencia a la insulina, es a través del incremento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), Caspasa 1, interleucina 1 beta (IL-1 β) y TNF- α en macrófagos[16]. Como resultado de la interacción entre ácidos grasos libres y TNF- α , la activación de quinasas aminoterminal c-Jun (JNK) de células CD11c+ mediante receptores tipo Toll-4 (TLR4) y el factor nuclear kappa beta (NF-kappa β), promueven la fosforilación de serina-307 del IRS-1, reduciendo así la movilización de GLUT-4 y la entrada de glucosa en las células[17, 18].

Es bien sabido que las dietas hipercalóricas son un factor determinante para el desarrollo de la obesidad y sus complicaciones metabólicas. En particular, la ingesta de edulcorantes calóricos o nutritivos y el jarabe de maíz con alto contenido de fructosa, ha aumentado drásticamente en los últimos cien años y se correlaciona estrechamente con el aumento de la obesidad, y sus complicaciones metabólicas. De esta manera, la preocupación por conservar la salud y la calidad de vida ha llevado a las personas a evitar el consumo de alimentos ricos en azúcar o edulcorantes calóricos[19]. Por esta razón los productos alimenticios que contienen alternativas sin calorías (edulcorantes artificiales no calóricos) se han vuelto cada vez más popular.

Edulcorantes artificiales no calóricos

Por definición, los edulcorantes son aditivos que otorgan sabor dulce a los alimentos. Hay dos tipos básicos: los naturales o nutritivos y los artificiales o no nutritivos. Los edulcorantes nutritivos proporcionan energía, es decir, calorías. Entre ellos encontramos a la sacarosa (azúcar común), la fructuosa (el azúcar de las frutas, 1.5 veces más dulce que el azúcar, por lo cual, si bien tiene el mismo valor calórico que ésta, se requieren cantidades menores para lograr el mismo grado de dulzor), la miel de abeja, el jarabe de maíz, la melaza, el piloncillo, la dextrosa y la maltosa, entre otros más[20]. Los edulcorantes artificiales son compuestos manufacturados cuyo beneficio radica en que son mucho más dulces que los edulcorantes naturales, pero con menor aporte energético, por lo que al agregarlos a una gran variedad de productos o alimentos se disminuye de forma importante su contenido de calorías, sin perder el sabor dulce[20]. Estos edulcorantes no calóricos incluyen aspartamo, acesulfamo-k, neotamo, sacarina, sucralosa y advantamo.

Sucralosa

La potencia de dulzor de aproximadamente 600 veces la de la sacarosa sin aporte de energía y su alta estabilidad en refrescos carbonatados, bebidas sin gas, mezclas secas y productos lácteos aún durante su almacenamiento prolongado con o sin condiciones adversas, ha hecho que la sucralosa sea uno de los edulcorantes artificiales más socorridos por personas con diabetes o aquellas que buscan reducir la ingesta de calorías o carbohidratos[21].

Un aspecto importante de la evaluación de la seguridad de un aditivo alimentario potencial es considerar si su experimentación en modelos animales es segura antes de llevarla al consumo humano. En este sentido, tanto en modelos animales como en humanos se ha demostrado que los niveles de absorción de la sucralosa son muy bajos y su ruta principal de excreción es sin cambios en las heces. Por lo que no hay retención o acumulación de sucralosa en el organismo. Tampoco se ha reportado ningún proceso catabólico (descomposición para obtención de energía) [22, 23].

Los estudios en humanos con sucralosa realizados inicialmente se diseñaron específicamente para evaluar la seguridad general y la tolerancia del consumo diario y repetido de sucralosa, por lo que incluyeron mediciones fisiológicas y bioquímicas básicas, tales como análisis bioquímico clínico en muestras de orina y sangre, así como la evaluación de marcadores hematológicos[24]. Los resultados demostraron que el consumo diario de sucralosa de hasta 10 mg/kg de peso corporal durante 13 semanas no presenta efectos adversos en ninguno de los parámetros de salud medidos[24]. El consumo de sucralosa no tuvo ningún efecto sobre los niveles de glucosa o insulina en la sangre, ya que en los estudios transversales o de seguimiento, no se observó afectación al metabolismo de glucosa o en la respuesta de la insulina[21]. La revisión de estos estudios condujo a la confirmación regulatoria de la seguridad de la sucralosa, incluso para personas con diabetes[25]. Sin embargo,

Aunque la sucralosa se usa en todo el mundo en alimentos y bebidas bajos en calorías y dietéticos, los problemas relacionados con sus efectos biológicos y, por lo tanto, su impacto a la salud ha generado preocupación. El descubrimiento relativamente reciente de los receptores intestinales de sabor dulce que ha llevado a nuevas preguntas sobre el potencial de la sucralosa para afectar el control de la glucosa en sangre [26]. La mayoría de los estudios *in vitro* demostraron que los edulcorantes no nutritivos pueden provocar la secreción de hormonas intestinales como el péptido 1 similar al glucagón y el péptido insulínico dependiente de la glucosa en las células enteroendocrinas o de los islotes[26]. En roedores, los edulcorantes no nutritivos han reportado

aumentar la tasa de absorción intestinal de glucosa, pero no la alteración de la secreción de hormonas intestinales en ausencia de glucosa[26]. Sin embargo, en humanos, pocos estudios han examinado los efectos hormonales de los edulcorantes no nutritivos y se han informado resultados inconsistentes, y la mayoría no replica los resultados obtenidos *in vitro*[26].

Sucralosa y secreción de hormonas metabólicas

Dado que los edulcorantes calóricos y no nutritivos actúan uniéndose a los receptores de sabor dulce en la cavidad oral para producir la sensación consciente de dulzura, es posible pensar que los edulcorantes no nutritivos podrían unirse a los receptores de sabor dulce en las células enteroendocrinas, lo que también podría inducir la transducción de señales con consecuente secreción de hormonas.

En estudios *in vivo* se ha demostrado que sucralosa estimula la secreción del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1, por sus siglas en inglés) y del péptido insulínico dependiente de glucosa (GIP, por sus siglas en inglés) a través de los receptores del sabor dulce. Jang et al. demostraron que sucralosa estimula la secreción de GLP-1 de una línea de células L humanas, siendo este efecto bloqueado por el inhibidor del sabor dulce lactisol[27]. Además, Margolske et al. (24), demostraron que la sucralosa también estimula la secreción de GLP-1 y GIP una línea celular enteroendocrina murina (células GLUTag)[28]. Este efecto también fue bloqueado por la exposición a un inhibidor del sabor dulce, la gurmarina[28]. Sin embargo, algunos estudios *in vivo* no han podido confirmar los efectos de los edulcorantes no nutritivos sobre la secreción hormonal observados *in vitro*[26]. Estudios desarrollados en individuos sanos no revelaron ningún efecto de la sucralosa oral en la secreción de GLP-1, péptido YY (PYY), grelina o GIP[29, 30].

Sucralosa y su relación con marcadores de inflamación

Es bien sabido que la inflamación sistémica de bajo grado es un factor central en la obesidad y contribuye a la patogenia de la enfermedad metabólica, especialmente a la alteración de la homeostasis de la glucosa y la insulina[31]. Además de caracterizarse por niveles anormalmente altos de citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) y la interleucina-1 beta (IL-1beta), la inflamación sistémica de bajo grado se acompaña de alteraciones en las subpoblaciones de monocitos clásicos (CD14⁺⁺CD16⁻), intermedios (CD14⁺⁺CD16⁺) y no clásicos (CD14⁺CD16⁺)[32, 33].

En estudios recientes se ha demostrado que la subpoblación monocitos clásicos aumenta en presencia de obesidad y se correlaciona con una mayor proporción de macrófagos CD11c⁺ en el tejido adiposo visceral[34]. CD11c es una integrina beta-2 con funciones destacadas en la adherencia celular de monocitos y macrófagos al tejido endotelial vascular y al tejido adiposo visceral[34, 35]. Además, se ha demostrado que los monocitos expresan CD206, un marcador de superficie celular altamente expresado en macrófagos antiinflamatorios que también se asocia con una mejor sensibilidad a la insulina tanto en humanos como en ratones[36-38]. De esta manera, la modulación de la expresión de CD11c y CD206 en células de linaje de monocitos y macrófagos es crucial no solo en las funciones inmunitarias típicas, sino también en la obesidad y la resistencia a la insulina[39]. Sin embargo, la subpoblación monocitos aún no se ha estudiado ampliamente en respuesta al consumo de edulcorantes artificiales no calóricos como la sucralosa[33].

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Al carecer de una metodología robusta y al no encontrarse estudios recientes del efecto de los edulcorantes sobre la respuesta inflamatoria celular, el presente trabajo pretende evidenciar si la exposición aguda a sucralosa en adultos jóvenes sanos presenta un efecto sobre la respuesta de glucosa, insulina, glucagón, péptido C e incretinas (GIP y GLP-1) a una curva de tolerancia oral a la glucosa (OGTT, por sus siglas en inglés) de 180 minutos y su posible relación con los porcentajes de monocitos clásicos, intermedios y no clásicos en adultos jóvenes.

JUSTIFICACIÓN

Hasta hoy, la evaluación de inocuidad de los edulcorantes no calóricos por agencias internacionales ha sido suficientemente satisfactoria para recomendar su uso en humanos. Esta confianza ha llevado a una producción y utilización masiva de estos aditivos por la población occidental de todas las edades, complementándose con la ausencia de evidencia epidemiológica enfocada en reportar reacciones adversas asociadas al consumo de estas sustancias. Sin embargo, estudios recientes relacionan un estado de intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina con el consumo crónico de algunos de estos edulcorantes que se encuentran disponibles en el mercado, como es el caso de la sucralosa. Los resultados de estos estudios han sido fuertemente criticados por la poca robustez de la metodología utilizada considerando únicamente el efecto de la sucralosa

sobre la microbiota intestinal y por haber omitido marcadores que están directamente involucrados en la disfunción metabólica. Por lo tanto, es necesario evaluar si el consumo agudo de sucralosa se asocia con intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina en humanos para generar evidencia científica que sirva de base para emitir recomendaciones fiables sobre el uso habitual de edulcorantes no calóricos en nuestra población.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El consumo de sucralosa se asocia con las subpoblaciones de monocitos y capacidad inflamatoria y de migración, así como con la concentración de glucosa e insulina y la intolerancia a la glucosa en adultos jóvenes sanos?

HIPÓTESIS

El consumo de sucralosa se asocia positivamente con la intolerancia a la glucosa y la disminución de subpoblaciones de monocitos y su capacidad inflamatoria y de migración en adultos jóvenes sanos.

OBJETIVOS

Objetivo general

Analizar el efecto de la exposición aguda de sucralosa sobre la respuesta de glucosa, insulina, glucagón, péptido C e incretinas (GIP y GLP-1) a una OGTT de 180 minutos y su posible relación con los porcentajes de monocitos clásicos, intermedios y no clásicos que expresan CD11c y CD206 en adultos jóvenes.

Objetivos específicos

- a) Evaluar las concentraciones de glucosa e insulina durante una OGTT de 180 minutos en presencia y ausencia de una exposición aguda previa de sucralosa.
- b) Determinar los porcentajes de monocitos clásicos, intermedios y no clásicos que expresan CD11c y CD206 antes (-15 minutos) y después (180 minutos) de la OGTT en presencia y ausencia de una exposición aguda previa de sucralosa.

- c) Estimar la correlación de las concentraciones de glucosa e insulina con los porcentajes de monocitos clásicos, intermedios y no clásicos que expresan CD11c y CD206 antes (-15 minutos) y después (180 minutos) de la OGTT en presencia y ausencia de una exposición aguda previa de sucralosa.
- d) Determinar la concentración de glucagón, péptido C, GIP y GLP-1 antes (-15 minutos) y durante (minutos 30 y 60) la OGTT en presencia y ausencia de una exposición aguda previa de sucralosa.

METODOLOGÍA

Diseño experimental y muestra de estudio

Cuarenta y cinco adultos sanos de ambos sexos (18 y 35 años) con valores del modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina (HOMA-IR) ≤ 3.8 fueron incluidos a este ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, placebo-controlado.

El presente estudio fue aprobado por el comité de ética institucional del Hospital General de México, que garantizó que el estudio se llevara a cabo respetando rigurosamente los principios descritos en la Declaración de Helsinki de 1964 y su posterior modificación en 2013. Previo a su enrolamiento en el estudio, cada uno de los participantes afirmó mediante la firma de una carta de consentimiento informado que, conocía el objetivo y procedimientos a los que sería sometido durante el estudio, así como los riesgos y beneficios que implicaba su participación.

Los participantes fueron inscritos al estudio en el Servicio de Banco de Sangre del Hospital General de México en el periodo de septiembre de 2016 hasta abril de 2018 y el proyecto se desarrolló en el Departamento de Medicina Interna y el Laboratorio de Proteómica y Metabolómica del mismo hospital. Se excluyeron del estudio los individuos que tenían diagnóstico previo de diabetes mellitus tipo 1, diabetes mellitus tipo 2, enfermedad cardiovascular, enfermedad hepática aguda o crónica, enfermedad renal aguda o crónica, cáncer, trastornos endocrinos, enfermedades infecciosas y enfermedades inflamatorias o autoinmunes. También se excluyeron pacientes seropositivos para VIH, VHC y VHB, mujeres embarazadas o lactantes e individuos con antiinflamatorios, medicación antiagregante, antihipertensiva e inmunomoduladora, incluidos los fármacos antiinflamatorios no esteroideos.

Mediciones antropométricas y bioquímicas

El peso, talla, circunferencia de cintura y la presión arterial se midieron en todos los voluntarios del estudio. El IMC se calculó como peso (kg) / altura (m)².

Para llevar a cabo la selección de los participantes, todos los candidatos fueron citados con un ayuno previo de 8-10 horas para la toma de una muestra de sangre de 10 ml. Las muestras se tomaron en un tubo con EDTA como anticoagulante y en uno seco. La muestra en el tubo con EDTA fue empleada para realizar una biometría hemática y determinar hemoglobina glucosilada (HbA1c) y la muestra en el tubo seco se utilizó para extraer el suero y determinar la química sanguínea y la concentración de insulina. Dentro de las pruebas de la química sanguínea, las concentraciones de colesterol total, lipoproteínas de baja y alta densidad (LDL y HDL), triglicéridos y glucosa se determinaron por método enzimático colorimétrico en el analizador modular COBAS Icobas 8000 (Hoffman-La Roche. Basel, Suiza), mientras que la concentración de insulina se midió por ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) siguiendo las instrucciones del fabricante (Abnova Corporation, Taiwan). El índice HOMA-IR se calculó usando la fórmula propuesta por Matthews et al. (1985)[40]. La HbA1c, el nitrógeno ureico en sangre (BUN), la creatinina sérica y la biometría hemática se determinaron mediante ensayos de laboratorio estándar.

Curva de tolerancia oral a la glucosa con y sin exposición aguda previa de sucralosa

Debido a que la OGTT con exposición aguda previa de sucralosa no es un procedimiento de rutina, seguimos el protocolo propuesto por Sylvetsky et al. (2016)[41]. Quince minutos antes de administrar la carga de glucosa oral, los voluntarios ingirieron al azar, en no más de 3 minutos, 60 ml de agua como placebo (n= 20) o 48 mg de sucralosa disueltos en 60 ml de agua (n= 25). Se obtuvieron muestras de sangre en tubos secos y con EDTA, a los 15 minutos antes de iniciar la OGTT, en el tiempo 0 y cada 15 minutos durante los 180 minutos que duró la OGTT. Mientras que las muestras de sangre obtenidas en tubos secos se emplearon para determinar la concentración de glucosa, insulina, glucagón, péptido C, GIP y GLP-1, las muestras obtenidas en tubos con EDTA se emplearon para realizar la cuantificación de monocitos inflamatorios.

Determinación de la concentración sérica de glucagón, péptido C, GIP y GLP-1

La determinación de la concentración sérica de GIP y GLP-1 se realizó por método de ELISA siguiendo las instrucciones del fabricante (Millipore, Billerica MA, USA) con el lector de

ELISA a 405 nm (Bio-Tek ELx800, 96 pozos, BIO-Tek, USA). Las concentraciones de glucagón y péptido C se determinaron utilizando un kit de hormonas metabólicas humanas de Milliplex en la tecnología Luminex (EMD Millipore, Billerica MA, EE. UU.).

Cuantificación de las subpoblaciones de monocitos por citometría de flujo para la

Aislamiento de los glóbulos blancos

El aislamiento de los glóbulos blancos se realizó mediante la centrifugación de muestras de sangre recolectadas en tubos EDTA a 1,800 g durante 10 minutos. Luego, los glóbulos blancos se colocaron en tubos eppendorf de 1,6 ml libres de pirógenos que contenían 1 ml de tampón de lisis ACK (Life Technologies, EE. UU.) y se incubaron a 4 °C durante 5 minutos. Posteriormente, la suspensión celular se centrifugó a 1,800 g a 4 °C durante 10 minutos y los sedimentos celulares se lavaron dos veces con PBS 1X (Sigma-Aldrich, México). Después de una etapa de centrifugación adicional y la eliminación del sobrenadante, los sedimentos celulares se resuspendieron en 50 µl de PBS 1X (Sigma-Aldrich, México). Inmediatamente después, se agregaron 3 µL de reactivo TruStrain humano (BioLegend, Inc., EE. UU.) a 2×10^5 glóbulos blancos y luego se incubaron durante 10 minutos a 4 °C. Luego, cada suspensión celular se incubó con anti-CD14 PE / Cy7, anti-CD16 FITC, anti-CD11c APC y anti-CD206 PE (BioLegend, Inc., EE. UU.) durante 30 min a 4 °C. El análisis de citometría de flujo se realizó en un citómetro de flujo FACSCanto II utilizando el software BD FACSDiva™ 6.0 (BD Biosciences, México), adquiriendo 1×10^5 eventos de monocitos por prueba por duplicado.

Cuantificación de las subpoblaciones de monocitos

Los glóbulos blancos se clasificaron en un gráfico de densidad de área de dispersión hacia adelante/dispersión hacia adelante. Posteriormente, las poblaciones de linfocitos, leucocitos polimorfonucleares y células de monocitos se agruparon en un gráfico de área de dispersión FSC-A/lado. Las células vivas se clasificaron con Live/Dead Aqua Stain (Thermo Fisher Scientific, Inc., EE. UU.) para la medición de CD14, CD16, CD11c y CD206. Las subpoblaciones de monocitos se caracterizaron de acuerdo con la expresión de la superficie celular de CD14 y CD16 de la siguiente manera: monocitos clásicos: $CD14^{++}CD16^{-}$; monocitos intermedios: $CD14^{++}CD16^{+}$; monocitos no clásicos: $CD14^{+}CD16^{+}$.

Análisis estadístico

La normalidad de la distribución de datos se estimó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. La proporción de mujeres en los grupos de placebo y sucralosa se analizó mediante la prueba de Chi cuadrada. La comparación de medias de las variables cuantitativas (edad, IMC, circunferencia de la cintura, presión arterial sistólica y diastólica, glucosa, porcentaje de hemoglobina glucosilada, insulina sérica, HOMA-IR, colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos, nitrógeno ureico en sangre, creatinina sérica, parámetros de la biometría hemática, intensidad de fluorescencia media de CD11c y CD206, porcentajes de monocitos clásicos y las concentraciones de glucagón, péptido C, GIP y GLP-1) entre los grupos placebo y sucralosa antes, después o durante la OGTT se realizó con la prueba t de Student. Para explorar la correlación entre glucosa e insulina con monocitos clásicos, intermedios y no clásicos, se estimaron los coeficientes de correlación de Pearson. Las pruebas estadísticas se consideraron significativas cuando los valores de p fueron menores a 0.05. Los análisis estadísticos se realizaron con el software GraphPad Prism 6.01 (GraphPad Software, La Jolla, CA 92037 EE. UU.).

RESULTADOS

Características generales de la muestra de estudio

Las características generales de la población de estudio se describen en la Tabla 1. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos placebo (n= 20) y sucralosa (n= 25) en cuanto a las características demográficas, metabólicas y hemáticas, incluidos el sexo, la edad, el IMC, el HOMA-IR, los marcadores del perfil lipídico, la función renal y los monocitos por microlitro de sangre.

Niveles sanguíneos de glucosa e insulina durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa

Los valores de glucosa en sangre no mostraron diferencias significativas entre los grupos de placebo y sucralosa a lo largo de la OGTT (Figura 1A). Por el contrario, los voluntarios que recibieron 48 mg de sucralosa antes de la carga de glucosa mostraron un aumento significativo de 1.3 veces en los niveles séricos de insulina a los 30 minutos, en comparación con los sujetos que bebían agua como placebo (p= 0.032; Figura 1B). También, a los 45 y 180 minutos, el grupo que recibió sucralosa mostró una elevación significativa de 1.4 y 2.0 veces, respectivamente, en la

concentración sérica de insulina con respecto al grupo control ($P_{45\text{minutos}}= 0.031$, $P_{180\text{minutos}}= 0.035$; Figura 1B).

Tabla 1. Características generales de la muestra de estudio

Variable	Placebo n= 20	Sucralosa n= 25	<i>p</i>
Mujeres, n (%)	8 (66.6)	8 (32.0)	0.288
Edad (años)	21.55 ± 2.18	22.36 ± 2.99	0.158
Índice de masa corporal (kg/m ²)	24.58 ± 3.63	23.67 ± 2.88	0.177
Circunferencia de cintura (cm)	82.27 ± 8.44	78.57 ± 8.37	0.074
Presión arterial sistólica (mm Hg)	111.10 ± 8.16	113.70 ± 13.91	0.225
Presión arterial diastólica (mm Hg)	70.75 ± 5.77	71.16 ± 7.33	0.419
Glucosa en ayuno (mg/dL)	88.20 ± 6.65	89.96 ± 5.68	0.172
HbA1c (%)	5.26 ± 0.24	5.23 ± 0.19	0.497
Insulina sérica (μU/L)	7.94 ± 2.91	8.31 ± 2.82	0.335
HOMA-IR	1.75 ± 0.70	1.85 ± 0.65	0.298
Colesterol total (mg/dL)	166.70 ± 31.21	168.60 ± 32.53	0.418
Colesterol LDL (mg/dL)	102.10 ± 28.92	99.80 ± 26.60	0.393
Colesterol HDL (mg/dL)	43.05 ± 10.60	44.40 ± 12.20	0.349
Triglicéridos (mg/dL)	111.20 ± 58.10	118.20 ± 102.70	0.392
Nitrógeno ureico en sangre (mg/dL)	22.40 ± 6.98	23.71 ± 5.95	0.249
Creatinina sérica (mg/dL)	0.82 ± 0.13	0.78 ± 0.13	0.165
Hematocrito (%)	45.63 ± 3.53	44.04 ± 4.37	0.097
Leucocitos totales (10 ³ /μL)	6.38 ± 1.49	6.05 ± 0.96	0.187
Monocitos (10 ³ /μL)	0.43 ± 0.11	0.39 ± 0.10	0.109
Monocitos (%)	6.94 ± 1.77	6.42 ± 1.33	0.134

Los datos son representados como media ± desviación estándar y n (%). La comparación de medias en variables cuantitativas y la frecuencia de mujeres se determinó con la prueba t de Student y Chi cuadrada, respectivamente. Valores significativos de $p (<0.05)$ se representan en negritas.

Subpoblaciones de monocitos antes y al final de la prueba de tolerancia oral a la glucosa

La figura 2 muestra los gráficos representativos de puntos de las subpoblaciones de monocitos en los grupos de placebo y sucralosa. Antes de la OGTT (-15 minutos; Figura 2 a y b) no se observaron diferencias entre los grupos placebo y sucralosa en los porcentajes de monocitos clásicos, intermedios y no clásicos (Figura 2e). Al final de la OGTT (180 minutos; Figura 2 b y d), mientras el porcentaje de monocitos clásicos aumentó significativamente 7% ($p= 0.0019$) en el grupo de sucralosa el porcentaje de monocitos no clásicos se redujo significativamente 63% ($p <0.0001$) en comparación con el grupo control (Figura 2e). No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de monocitos intermedios.

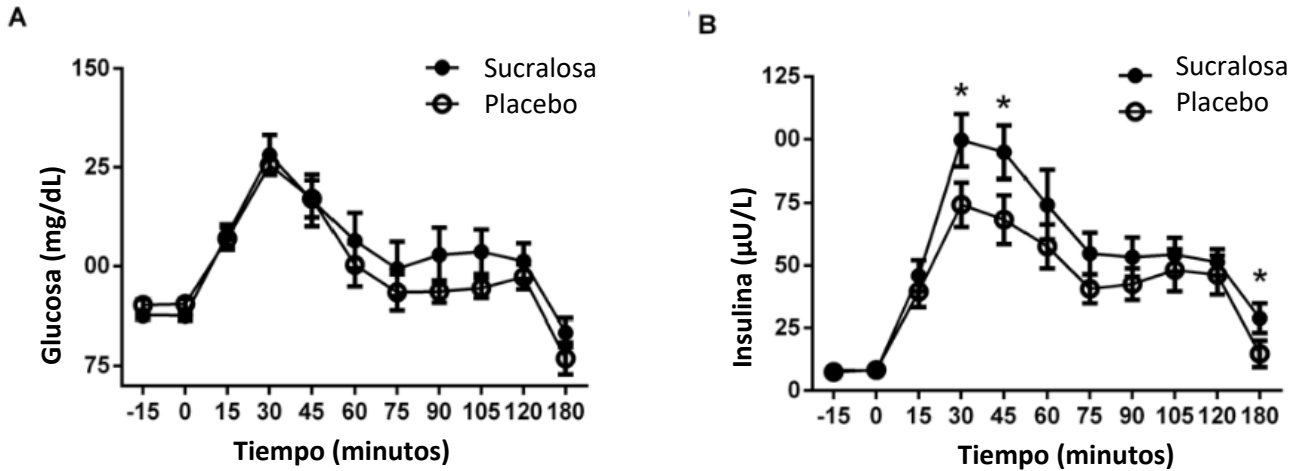


Figura 1. Niveles sanguíneos de glucosa **A)** e insulina **B)** durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa. Datos representados como media \pm desviación estándar y comparadas con la prueba de ANOVA de 2 vías con corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples. Valores significativos de p (<0.05) se representan con *.

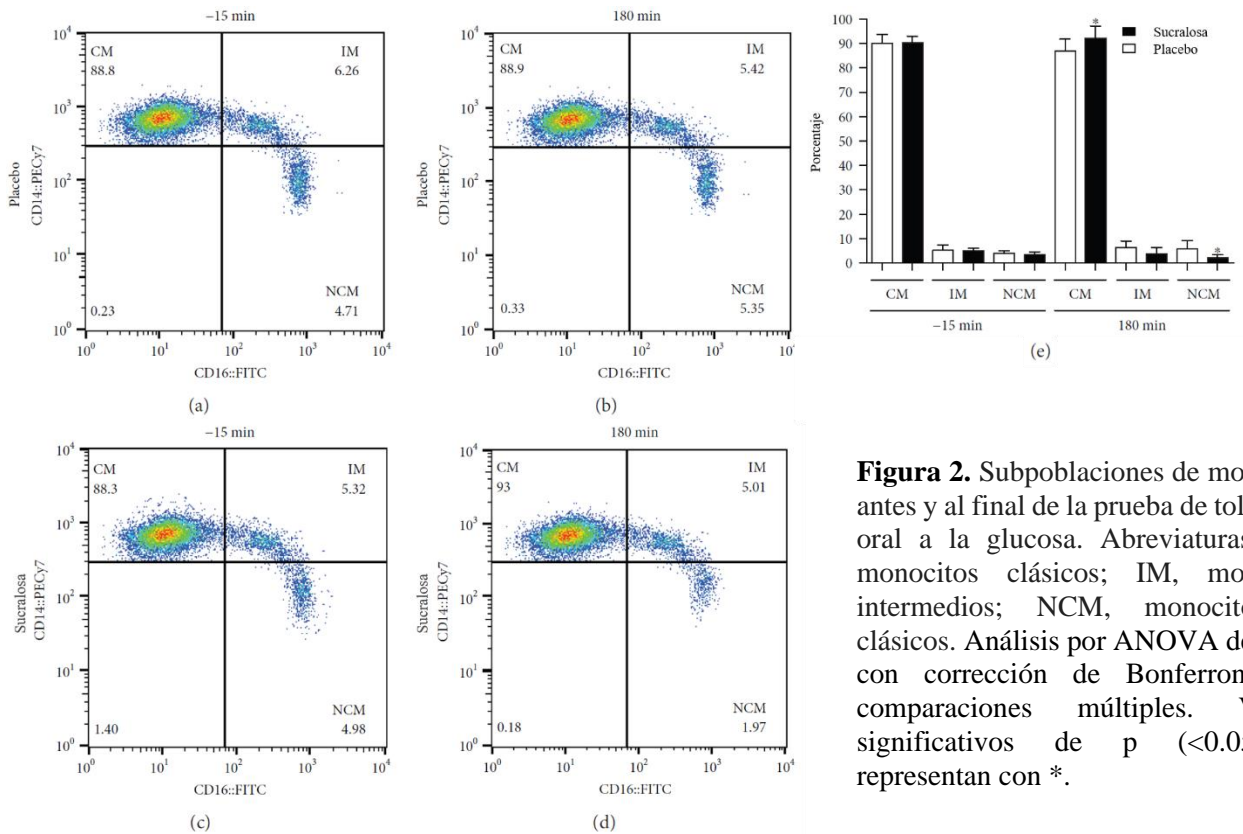


Figura 2. Subpoblaciones de monocitos antes y al final de la prueba de tolerancia oral a la glucosa. Abreviaturas: CM, monocitos clásicos; IM, monocitos intermedios; NCM, monocitos no clásicos. Análisis por ANOVA de 2 vías con corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples. Valores significativos de p (<0.05) se representan con *.

Asociación de las concentraciones de glucosa e insulina con las subpoblaciones de monocitos antes y al final de la prueba de tolerancia oral a la glucosa

La Tabla 2 muestra el análisis de correlación entre las concentraciones de glucosa e insulina con las subpoblaciones de monocitos antes y al final de la prueba de tolerancia oral a la glucosa. No se encontró asociación significativa entre la concentración de glucosa y las subpoblaciones de monocitos en el grupo placebo ($p \geq 0.06$) ni en el grupo con sucralosa ($p \geq 0.06$) (Tabla 2). Sin embargo, en el grupo de sucralosa, la concentración de insulina sérica se asoció positivamente con los monocitos clásicos ($r = 0.41$, $p = 0.02$), y negativamente con los monocitos no clásicos ($r = -0.42$, $P = 0.01$) (Tabla 2).

Tabla 2. Correlación de las concentraciones de glucosa e insulina con las subpoblaciones de monocitos

Variables / Minutos	Placebo				Sucralosa				
	-15'		180'		-15'		180'		
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	
Glucosa	MC (%)	0.24	0.12	0.35	0.06	0.19	0.18	0.14	0.25
	MI (%)	-0.15	0.28	-0.25	0.13	-0.20	0.16	0.06	0.38
	MNC (%)	-0.20	0.18	-0.24	0.14	-0.37	0.06	0.12	0.27
Insulina	MC (%)	0.01	0.46	0.10	0.33	0.06	0.37	0.41	0.02
	MI (%)	0.31	0.08	-0.21	0.17	0.24	0.12	-0.27	0.09
	MNC (%)	-0.36	0.06	0.04	0.42	-0.29	0.07	-0.42	0.01

Análisis por correlación de Spearman. Abreviaturas: CM, monocitos clásicos; IM, monocitos intermedios; NCM, monocitos no clásicos. Valores significativos de p (<0.05) se representan en negritas.

Concentración de glucagón, péptido C, GIP y GLP-1 antes y durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa

Las concentraciones de glucagón, péptido C, GIP y GLP-1 antes (-15 minutos) y durante (minutos 30 y 60) la OGTT en presencia y ausencia de una exposición aguda previa de sucralosa se describen en la Figura 3. Respecto a la concentración de glucagón, ésta fue similar entre los grupos placebo y sucralosa antes de la OGTT ($p = 0.238$; Figura 3A). Sin embargo, el grupo de sucralosa presentó concentraciones significativamente menores de glucagón a los 30 y 60 minutos en comparación con el grupo placebo ($P_{30 \text{ minutos}} = 0.002$; $P_{60 \text{ minutos}} = 0.011$; Figura 3A). La

concentración de péptido C, GIP y GLP-1 antes (-15 minutos) y durante (minutos 30 y 60) la OGTT fue similar entre los grupos placebo y sucralosa ($P_{\text{Péptido C}} \geq 0.068$; $P_{\text{GIP}} \geq 0.194$; $P_{\text{GLP-1}} \geq 0.084$; Figura 3B-C).

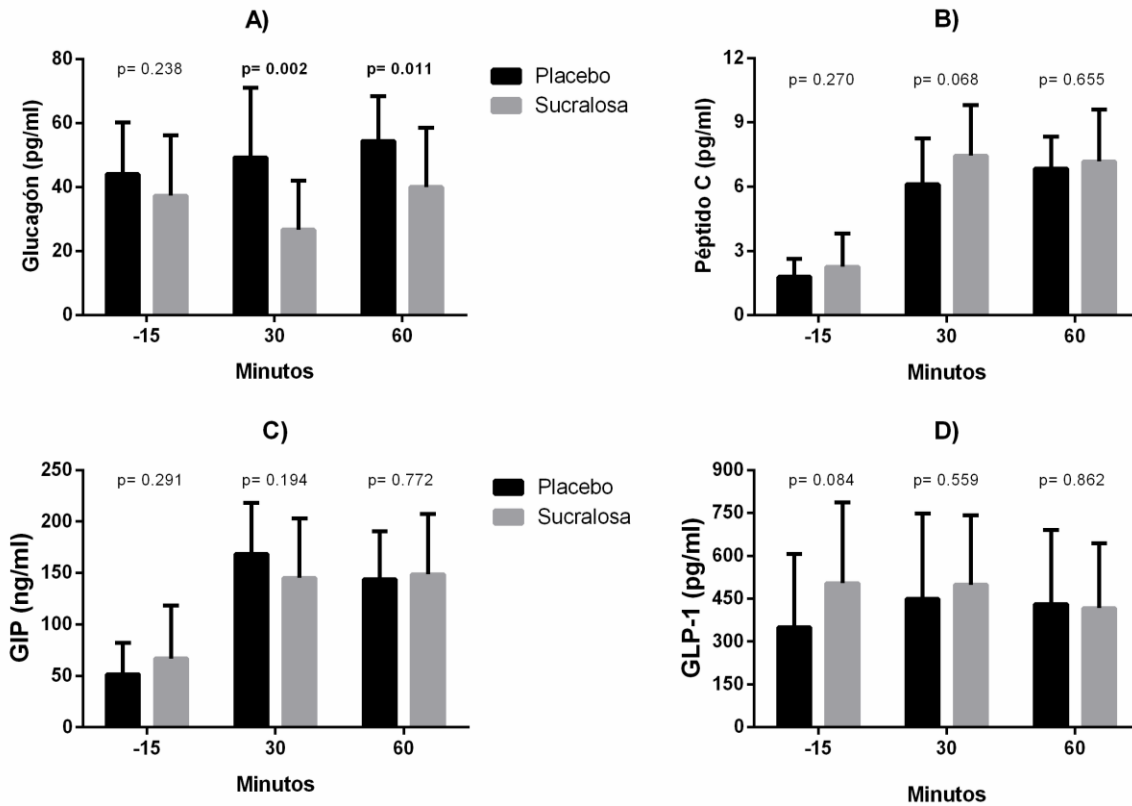


Figura 3. Concentración de A) glucagón, B) péptido C, C) GIP y D) GLP-1 antes y durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa. Datos representados como media \pm desviación estándar y comparadas con la prueba de ANOVA de 2 vías con corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples. Valores significativos de p (<0.05) se representan en negritas.

DISCUSIÓN

Millones de personas de todas las edades, géneros y estatus socioeconómico de todo el mundo consumen edulcorantes artificiales sin calorías[42]. Sin embargo, la sucralosa y otros edulcorantes artificiales no calóricos ahora se han relacionado con alteraciones en la homeostasis de la glucosa y la insulina tanto en modelos animales como en humanos[43-46]. Por esta razón,

resulta de alta importancia continuar caracterizando los posibles efectos perjudiciales de la sucralosa en ensayos clínicos aleatorizados, controlados con placebo.

Nuestros resultados evidencian que en adultos jóvenes sanos pareados por edad y sexo sometidos a un OGTT, un solo sorbo de 48 mg de sucralosa aumenta la concentración sérica de insulina, pero no la glucosa. Aunque no consuerdan en todo, estos datos son similares a reportes previos en la literatura donde se muestra que una cantidad similar de sucralosa puede elevar tanto la insulina como la glucosa en individuos con obesidad mórbida que reciben una carga de glucosa[47]. Una posible explicación a los resultados que reportamos en el presente estudio se respalda en evidencia previa que muestra que los adultos jóvenes sin resistencia a la insulina tienen la capacidad de aumentar la secreción de insulina para disminuir efectivamente el exceso de glucosa en la sangre[48, 49]. En contraste, numerosos estudios han demostrado consistentemente que los sujetos no diabéticos con obesidad mórbida expuestos a una carga de glucosa pueden aumentar claramente la secreción de insulina sin lograr la eliminación de la glucosa en la sangre debido a una marcada resistencia a la insulina[50, 51]. En este escenario, es posible suponer que el consumo de sucralosa puede tener efectos diferenciales en adultos jóvenes sanos y en sujetos con obesidad mórbida debido a la presencia de resistencia a la insulina. En otras palabras, la ingesta de sucralosa puede estimular la secreción de insulina y, de este modo, reducir los niveles de glucosa en adultos jóvenes sanos pero no en sujetos obesos mórbidos que muestran niveles más altos de resistencia a la insulina y, por lo tanto, intolerancia a la glucosa. El hecho de que la sucralosa es capaz de estimular directamente la secreción de insulina se ha reportado previamente en células beta pancreáticas e islotes de ratón[52], pero sigue siendo difícil de examinar en los seres humanos.

La activación de monocitos y macrófagos de bajo grado se ha asociado con el desarrollo de hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina[53, 54]. En este sentido, es bien sabido que los edulcorantes como la sacarosa o la glucosa ejercen la capacidad de aumentar la expresión de TNF-alfa e IL-1beta, y regulan a la baja la producción de interleucina-10 (IL-10) en macrófagos derivados de monocitos humanos[55, 56]. Sin embargo, el efecto de los edulcorantes artificiales no calóricos en las células inmunes ha sido porco explorado. Un estudio previo demostró que la exposición de leucocitos de sangre total humana a la sucralosa puede suprimir la secreción de interleucina-6 (IL-6) y IL-10, incluso en presencia de fitohemaglutinina (PHA) o lipopolisacárido (LPS)[57]. Del mismo modo, se ha demostrado que el porcentaje de células TCD3+ aumenta en las placas de Peyer y en la lámina propia de ratones tratados con

sucralosa en el agua de beber[43]. Además, las células TCD3+ en las placas de Peyer también mostraron una elevación en la producción de TNF-alfa e interferón gamma (IFN-gamma), acompañada por una expresión reducida de IL-10, que apoya el papel de la sucralosa en la modulación de la activación de las células inmunitarias[43]. Junto con la información previa, nuestros resultados muestran por primera vez que un solo sorbo de sucralosa aumenta significativamente el porcentaje de monocitos clásicos y reduce la subpoblación de monocitos no clásicos en adultos jóvenes sanos sometidos a una OGTT. Otra posible explicación a la relación entre la exposición a sucralosa y las subpoblaciones de monocitos esta relacionada puede estar relacionada con el hecho de que el sabor dulce de la sucralosa y otros edulcorantes calóricos y no calóricos está mediado por los receptores acoplados a la proteína G (GPCR) T1R1, T1R2 y T1R3[58]. Los receptores de sabor dulce se describieron por primera vez en el intestino[59], las células enteroendocrinas y el páncreas[60]. Sin embargo, T1R3 también se ha identificado en macrófagos peritoneales de ratón[61]. En particular, se ha demostrado que la exposición in vitro de T1R3 a trehalosa (un disacárido que consiste en dos moléculas de glucosa) se asocia con la supresión de la expresión de TNF-alfa e IL-1 beta en macrófagos murinos[61]. Por lo tanto, es factible especular que la sucralosa puede ejercer sus efectos sobre los porcentajes de monocitos clásicos y no clásicos a través de T1R3. Sin embargo, todavía necesitamos medir la expresión del receptor de sabor dulce en subpoblaciones de monocitos humanos para sacar conclusiones importantes con respecto a este punto.

Nuestros resultados también muestran que el aumento de la insulina sérica correlaciona de manera importante con la elevación de los monocitos clásicos y la reducción de los monocitos no clásicos en el grupo de sucralosa. Devivre y colaboradores demostraron previamente que la insulina sérica está significativamente asociada con las subpoblaciones de monocitos clásicos, intermedios y no clásicos de pacientes con obesidad mórbida y con resistencia a la insulina[54]. Además, otro estudio demostró que la insulina es capaz de inducir la fosforilación de la proteína quinasa B (AKT) en los subconjuntos de monocitos clásicos y no clásicos[62]. Por otro lado, Bunn y colaboradores informaron que en condiciones de cultivo, la insulina puede aumentar la expresión de TNF-alfa e IL-6 inducida por palmitato en monocitos humanos[63].

Teniendo en cuenta que, (1) la sucralosa puede estimular directamente la secreción de insulina pancreática a través de T1R2 y T1R3 [33], y (2) la insulina es capaz de regular la actividad de los monocitos humanos[62, 63], entonces es razonable suponer que la insulina sérica podría

modificar directamente los porcentajes de monocitos clásicos y no clásicos en sujetos que reciben sucralosa pero no agua.

El presente trabajo también evidencia una asociación entre sucralosa y la disminución de la concentración de glucagón. Sin embargo, la dicha asociación ha sido poco explorada en la literatura[64]. Existe evidencia bien establecida de que el glucagón influye negativamente en el balance energético, ya que aumenta la saciedad y el gasto de energía[65]. En este sentido, la asociación negativa entre sucralosa y glucagón que reportamos, sugiere que el consumo de sucralosa podría estar involucrado en la desregulación de hormonas relacionadas con el control del apetito, lo que podría conllevar a la ganancia de peso corporal en el caso del consumo crónico de sucralosa. Por otro lado, y aunque en el presente estudio no encontramos asociación significativa entre sucralosa y GLP-1, en individuos sanos y en sujetos con diabetes tipo 1, se ha evidenciado que la ingesta de sucralosa aumenta la secreción de GLP-1, una hormona incretina secretada en el intestino que induce la estimulación de la insulina dependiente de glucosa por parte del páncreas, reduce la secreción de glucagón por el hígado, retrasa el vaciamiento gástrico y aumenta la saciedad[64]. Hasta el momento no se ha descrito un mecanismo biológico completamente plausible para explicar la asociación del consumo de sucralosa con la concentración de hormonas relacionadas con la regulación del apetito y gasto energético, por lo que es necesario continuar desarrollando estudios que permitan describir los mecanismos fisiológicos con los cuales se pueda explicar dicha asociación.

Nuestros hallazgos se suman a los reportes de la literatura en los que se apoya la idea de que la sucralosa puede tener acciones proinflamatorias en las células inmunitarias. Sin embargo, se necesitan estudios adicionales en humanos para caracterizar el posible papel de la sucralosa como una señal proinflamatoria.

CONCLUSIONES

El presente trabajo demuestra que un solo sorbo de sucralosa durante una OGTT aumenta los niveles séricos de insulina en adultos jóvenes sanos. El consumo de sucralosa no solo se relacionó con niveles elevados de insulina, sino también con una mayor proporción de monocitos clásicos y un porcentaje reducido de monocitos no clásicos. Los resultados del presente trabajo podrían impactar en el tratamiento y control de pacientes con T2D que presentan una secreción de insulina deficiente y pacientes con obesidad y resistencia a la insulina, ya que sin conocer el efecto

potencialmente dañino a largo plazo de edulcorantes artificiales calóricos sobre el metabolismo de la insulina, se piensa que el consumo de sucralosa podría reducir la glucemia y la ingesta de calorías.

REFERENCIAS

1. Shamah-Levy T R-MnM, Barrientos-Gutiérrez T, Cuevas-Nasu L, Bautista-Arredondo S, Colchero MA, Gaona- Pineda EB, Lazcano-Ponce E, Martínez-Barnetche J, Alpuche-Arana C, Rivera-Dommarco J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2020 sobre Covid-19. Resultados nacionales. Instituto Nacional de Salud Pública; 2021.
2. Parsons TJ, Power C, Logan S, Summerbell CD. Childhood predictors of adult obesity: a systematic review. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1999;23 Suppl 8:S1-107.
3. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet.* 2014;384(9945):766-81.
4. Griffiths LJ, Parsons TJ, Hill AJ. Self-esteem and quality of life in obese children and adolescents: a systematic review. *Int J Pediatr Obes.* 2010;5(4):282-304.
5. Rosenbloom AL, Silverstein JH, Amemiya S, Zeitler P, Klingensmith GJ, International Society for P, et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2006-2007. Type 2 diabetes mellitus in the child and adolescent. *Pediatr Diabetes.* 2008;9(5):512-26.
6. Bloomgarden ZT. American Diabetes Association Annual Meeting, 1999: diabetes and obesity. *Diabetes Care.* 2000;23(1):118-24.
7. Dulloo AG, Jacquet J, Solinas G, Montani JP, Schutz Y. Body composition phenotypes in pathways to obesity and the metabolic syndrome. *Int J Obes (Lond).* 2010;34 Suppl 2:S4-17.
8. Reilly SM, Saltiel AR. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nat Rev Endocrinol.* 2017;13(11):633-43.
9. Spalding KL, Arner E, Westermark PO, Bernard S, Buchholz BA, Bergmann O, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature.* 2008;453(7196):783-7.
10. Maumus M, Sengenès C, Decaunes P, Zakaroff-Girard A, Bourlier V, Lafontan M, et al. Evidence of in situ proliferation of adult adipose tissue-derived progenitor cells: influence of fat mass microenvironment and growth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(10):4098-106.

11. Kusminski CM, Bickel PE, Scherer PE. Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes. *Nat Rev Drug Discov.* 2016;15(9):639-60.
12. Singh RG, Yoon HD, Wu LM, Lu J, Plank LD, Petrov MS. Ectopic fat accumulation in the pancreas and its clinical relevance: A systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Metabolism.* 2017;69:1-13.
13. Peraldi P, Spiegelman B. TNF-alpha and insulin resistance: summary and future prospects. *Mol Cell Biochem.* 1998;182(1-2):169-75.
14. Kleemann R, Zadelaar S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice. *Cardiovasc Res.* 2008;79(3):360-76.
15. Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc.* 2001;60(3):349-56.
16. Lee BC, Lee J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1842(3):446-62.
17. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K, et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature.* 2002;420(6913):333-6.
18. Engin AB. Adipocyte-Macrophage Cross-Talk in Obesity. *Adv Exp Med Biol.* 2017;960:327-43.
19. Lohner S, Toews I, Meerpohl JJ. Health outcomes of non-nutritive sweeteners: analysis of the research landscape. *Nutr J.* 2017;16(1):55.
20. Grembecka M. Natural sweeteners in a human diet. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2015;66(3):195-202.
21. Magnuson BA, Roberts A, Nestmann ER. Critical review of the current literature on the safety of sucralose. *Food Chem Toxicol.* 2017;106(Pt A):324-55.
22. John BA, Wood SG, Hawkins DR. The pharmacokinetics and metabolism of sucralose in the mouse. *Food Chem Toxicol.* 2000;38 Suppl 2:S107-10.
23. Roberts A, Renwick AG, Sims J, Snodin DJ. Sucralose metabolism and pharmacokinetics in man. *Food Chem Toxicol.* 2000;38 Suppl 2:S31-41.
24. Baird IM, Shephard NW, Merritt RJ, Hildick-Smith G. Repeated dose study of sucralose tolerance in human subjects. *Food Chem Toxicol.* 2000;38 Suppl 2:S123-9.
25. FDA. Food and Drug Administration. Food Additives Permitted for Direct Addition to Food for Human Consumption: Sucralose. Final Rule. Federal Register, 21CFR Part 172; Docket

No. (87F-0086) 63 (No 64), pp. 16417e16433. US Department of Health and Human Services. 1988.

26. Brown RJ, Rother KI. Non-nutritive sweeteners and their role in the gastrointestinal tract. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(8):2597-605.

27. Jang HJ, Kokrashvili Z, Theodorakis MJ, Carlson OD, Kim BJ, Zhou J, et al. Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(38):15069-74.

28. Margolskee RF, Dyer J, Kokrashvili Z, Salmon KS, Ilegems E, Daly K, et al. T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na⁺-glucose cotransporter 1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(38):15075-80.

29. 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.

30. 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.

31. Lumeng CN, Saltiel AR. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest.* 2011;121(6):2111-7.

32. Considine RV. Activated monocytes: yet another link between systemic inflammation and obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(7):2347-9.

33. Ziegler-Heitbrock L. Blood Monocytes and Their Subsets: Established Features and Open Questions. *Front Immunol.* 2015;6:423.

34. Wouters K, Gaens K, Bijnen M, Verboven K, Jocken J, Wetzels S, et al. Circulating classical monocytes are associated with CD11c(+) macrophages in human visceral adipose tissue. *Sci Rep.* 2017;7:42665.

35. Wu H, Perrard XD, Wang Q, Perrard JL, Polsani VR, Jones PH, et al. CD11c expression in adipose tissue and blood and its role in diet-induced obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(2):186-92.

36. Cornwell WD, Kim V, Fan X, Vega ME, Ramsey FV, Criner GJ, et al. Activation and polarization of circulating monocytes in severe chronic obstructive pulmonary disease. *BMC Pulm Med.* 2018;18(1):101.

37. Kristensen MD, Lund MT, Hansen M, Poulsen SS, Ploug T, Dela F, et al. Macrophage Area Content and Phenotype in Hepatic and Adipose Tissue in Patients with Obesity Undergoing Roux-en-Y Gastric Bypass. *Obesity (Silver Spring)*. 2017;25(11):1921-31.
38. Liu D, Morales FE, IglayReger HB, Treutelaar MK, Rothberg AE, Hubal MJ, et al. Expression of macrophage genes within skeletal muscle correlates inversely with adiposity and insulin resistance in humans. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2018;43(2):187-93.
39. Wentworth JM, Naselli G, Brown WA, Doyle L, Phipson B, Smyth GK, et al. Pro-inflammatory CD11c+CD206+ adipose tissue macrophages are associated with insulin resistance in human obesity. *Diabetes*. 2010;59(7):1648-56.
40. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9.
41. Sylvetsky AC, Brown RJ, Blau JE, Walter M, Rother KI. Hormonal responses to non-nutritive sweeteners in water and diet soda. *Nutr Metab (Lond)*. 2016;13:71.
42. Purohit V, Mishra S. The truth about artificial sweeteners - Are they good for diabetics? *Indian Heart J*. 2018;70(1):197-9.
43. Rosales-Gomez CA, Martinez-Carrillo BE, Resendiz-Albor AA, Ramirez-Duran N, Valdes-Ramos R, Mondragon-Velasquez T, et al. Chronic Consumption of Sweeteners and Its Effect on Glycaemia, Cytokines, Hormones, and Lymphocytes of GALT in CD1 Mice. *Biomed Res Int*. 2018;2018:1345282.
44. Lertrit A, Srimachai S, Saetung S, Chanprasertyothin S, Chailurkit LO, Areevut C, et al. Effects of sucralose on insulin and glucagon-like peptide-1 secretion in healthy subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition*. 2018;55-56:125-30.
45. Suez J, Korem T, Zeevi D, Zilberman-Schapira G, Thaiss CA, Maza O, et al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*. 2014;514(7521):181-6.
46. Rother KI, Conway EM, Sylvetsky AC. How Non-nutritive Sweeteners Influence Hormones and Health. *Trends Endocrinol Metab*. 2018;29(7):455-67.
47. 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.

48. Takahashi K, Nakamura H, Sato H, Matsuda H, Takada K, Tsuji T. Four Plasma Glucose and Insulin Responses to a 75 g OGTT in Healthy Young Japanese Women. *J Diabetes Res.* 2018;2018:5742497.
49. Young-Hyman D, Schlundt DG, Herman L, De Luca F, Counts D. Evaluation of the insulin resistance syndrome in 5- to 10-year-old overweight/obese African-American children. *Diabetes Care.* 2001;24(8):1359-64.
50. Al-Goblan AS, Al-Alfi MA, Khan MZ. Mechanism linking diabetes mellitus and obesity. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2014;7:587-91.
51. Meyer-Gerspach AC, Cajacob L, Riva D, Herzog R, Drewe J, Beglinger C, et al. Mechanisms Regulating Insulin Response to Intra-gastric Glucose in Lean and Non-Diabetic Obese Subjects: A Randomized, Double-Blind, Parallel-Group Trial. *PLoS One.* 2016;11(3):e0150803.
52. Nakagawa Y, Nagasawa M, Yamada S, Hara A, Mogami H, Nikolaev VO, et al. Sweet taste receptor expressed in pancreatic beta-cells activates the calcium and cyclic AMP signaling systems and stimulates insulin secretion. *PLoS One.* 2009;4(4):e5106.
53. Ferguson JF, Shah RY, Shah R, Mehta NN, Rickels MR, Reilly MP. Activation of innate immunity modulates insulin sensitivity, glucose effectiveness and pancreatic beta-cell function in both African ancestry and European ancestry healthy humans. *Metabolism.* 2015;64(4):513-20.
54. Devevre EF, Renovato-Martins M, Clement K, Sautes-Fridman C, Cremer I, Poitou C. Profiling of the three circulating monocyte subpopulations in human obesity. *J Immunol.* 2015;194(8):3917-23.
55. Moganti K, Li F, Schmuttermaier C, Riemann S, Kluter H, Gratchev A, et al. Hyperglycemia induces mixed M1/M2 cytokine profile in primary human monocyte-derived macrophages. *Immunobiology.* 2017;222(10):952-9.
56. Torres-Castro I, Arroyo-Camarena UD, Martinez-Reyes CP, Gomez-Arauz AY, Duenas-Andrade Y, Hernandez-Ruiz J, et al. Human monocytes and macrophages undergo M1-type inflammatory polarization in response to high levels of glucose. *Immunol Lett.* 2016;176:81-9.
57. Rahiman F, Pool EJ. The in vitro effects of artificial and natural sweeteners on the immune system using whole blood culture assays. *J Immunoassay Immunochem.* 2014;35(1):26-36.
58. Welcome MO, Mastorakis NE, Pereverzev VA. Sweet taste receptor signaling network: possible implication for cognitive functioning. *Neurol Res Int.* 2015;2015:606479.

59. Hofer D, Puschel B, Drenckhahn D. Taste receptor-like cells in the rat gut identified by expression of alpha-gustducin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(13):6631-4.
60. Kojima I, Nakagawa Y. The Role of the Sweet Taste Receptor in Enteroendocrine Cells and Pancreatic beta-Cells. *Diabetes Metab J*. 2011;35(5):451-7.
61. Taya K, Hirose K, Hamada S. Trehalose inhibits inflammatory cytokine production by protecting IkappaB-alpha reduction in mouse peritoneal macrophages. *Arch Oral Biol*. 2009;54(8):749-56.
62. Thewissen MM, van de Gaar J, den Boer AT, Munsters MJ, Blaak EE, Duijvestijn A. Monocytes, but not T cells, respond to insulin with Akt(S473) phosphorylation independent of the donor glucometabolic state. *Diabetes Metab Res Rev*. 2014;30(4):323-32.
63. Bunn RC, Cockrell GE, Ou Y, Thrailkill KM, Lumpkin CK, Jr., Fowlkes JL. Palmitate and insulin synergistically induce IL-6 expression in human monocytes. *Cardiovasc Diabetol*. 2010;9:73.
64. Schiffman SS, Rother KI. Sucralose, a synthetic organochlorine sweetener: overview of biological issues. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2013;16(7):399-451.
65. Gonzalez-Garcia I, Milbank E, Dieguez C, Lopez M, Contreras C. Glucagon, GLP-1 and Thermogenesis. *Int J Mol Sci*. 2019;20(14).