

REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LITERATURA – ALITAME

Autores

T. Pérez, N. Acosta, A. Gamboa, J. Mantilla, M. Montoya, J. Vásquez, D. Correa.

Instituto Nacional de Salud, Subdirección de Investigación, Unidad de Evaluación de Riesgos para la Inocuidad de Alimentos UERIA, Bogotá D.C., Colombia.

RESUMEN

Objetivo: identificar los efectos causados en salud por alitame utilizado como edulcorante en alimentos procesados, reportados en estudios descriptivos y observacionales analíticos de casos y controles presentados en los últimos diez años en el ámbito internacional, por medio de una revisión sistemática de literatura.

ABSTRACT

Objective: Identify the effects on health for the alitame used as a sweetener in processed foods, reported in descriptive studies and observational analytical cases and controls, presented in the last ten years in the international scope, through a systematic review of literature.

Metodología: los estudios descriptivos y observacionales referentes a los efectos en salud causadas por alitame en productos procesados se realizó con las bases de datos MEDLINE, PUBMED, SCIENCE DIRECT, Scielo, Biblioteca virtual en salud (BVS) y Highwire.

Resultados

No se encontraron artículos que cumplieran los requisitos para ser incluidos en esta Revisión Sistemática de la Literatura (RSL) sobre alitame. Se describen los efectos estudiados en animales de experimentación y los resultados de los estudios de carcinogenicidad.

Conclusiones

El alitame es un edulcorante artificial de bajo poder calórico desarrollado desde hace más de 30 años. Sin embargo, es comercializado en pocos países. La información científica relacionada con la ingesta de productos que contienen este edulcorante, se ha obtenido principalmente de dos países, Australia y Nueva Zelanda. Con los estudios realizados hasta el momento en animales de experimentación alimentados con un suplemento con alitame, se han analizado los

efectos hepáticos tales como el aumento de peso del hígado y la inducción enzimática, encontrándose que no se dispone de información suficiente para establecer la IDA definitiva, por lo cual no está aprobado su uso en Estados Unidos de América, los países miembros de la Unión europea, Canadá, Japón, entre otros. Los últimos estudios realizados indican que igualmente, no ha sido posible establecer evidencia epidemiológica de riesgo de carcinogenicidad.

PALABRAS CLAVE

Alitame, alitamo, aditivos, edulcorantes, productos procesados, edulcorantes artificiales, estudios descriptivos, OR, alimentos para diabéticos, productos de dieta, cáncer hepático, genotoxicidad, mutagenicidad.

INTRODUCCIÓN

El alitame es un edulcorante artificial compuesto de ácido L-aspártico y D-alaninamida; es 2000 veces más dulce que la sacarosa (1), presenta un valor de $fsac.g(10) = 2000$ (2), así como un bajo poder calórico (aproximadamente 0,02% de la sacarosa) (3). El alitame, no tiene las cualidades amargas o metálicas de los edulcorantes fuertes. Este aditivo está aprobado para uso en alimentos y bebidas en Australia, Nueva Zelanda, México, China y Colombia. En México, Australia y Nueva Zelanda se vende con el nombre comercial de Aclame® (4).

Los aspectos fisicoquímicos y parámetros toxicológicos del alitame se describen con mayor detalle en el anexo 1. De igual forma, dado que en la literatura revisada no se describen metodologías para la determinación de alitame o sus productos de transformación en fluidos biológicos, si se han descrito diversas metodologías para la determinación del edulcorante en alimentos, los cuales se resumen en la tabla 9 del mencionado anexo.

Tras la consulta, se encontró que el Centro de control de enfermedades y prevención CDC de Estados Unidos no reporta eventos tóxicos con alitame utilizado como aditivo alimentario (5), igualmente el alitame no se encuentra clasificado en la lista de la Agencia Internacional de investigación en cáncer - IARC - (6).

Con la información disponible, no es posible establecer una relación causa / efecto por la exposición de la población a niveles bajos de alitame en alimentos procesados, debido al tiempo prolongado de exposición requerida. Aunque se realizan ensayos en animales de experimentación para evaluar la carcinogenicidad, genotoxicidad, mutagenicidad, alteraciones en el desarrollo,

entre los principales efectos a largo plazo, se debe considerar que aunque esta sustancia puede jugar un papel importante en el desarrollo de estas enfermedades, no es el único factor a tener en cuenta.

En este documento se realizó una revisión sistemática sobre los efectos en salud asociados al consumo de alimentos y bebidas procesadas que contienen alitame, en los últimos diez años en el ámbito nacional e internacional. La búsqueda no arrojó estudios descriptivos y de casos y controles que evidenciaran la relación entre el consumo y los efectos en salud.

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio observacional y retrospectivo a través de una RSL que permite recopilar y sintetizar los resultados de múltiples investigaciones primarias para así evaluar la información de forma crítica y generar las conclusiones que resumen la magnitud del problema causado por la presencia de alimentos procesados con alitame y su asociación con la intoxicación alimentaria ocasionada por los efectos agudos y crónicos de esta sustancia.

La RSL es parte esencial de la medicina basada en la evidencia, por su rigurosa metodología dado que sigue un plan determinado que debe ser descrito con claridad para permitir que sea reproducible en el futuro. Los elementos claves en el proceso de una RSL se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Pasos para realizar una revisión sistemática de la literatura.

Pasos	Actividad
1	Definir la pregunta de investigación
2	Definir los criterios de inclusión y exclusión: <ul style="list-style-type: none">• Participantes• Intervenciones y comparaciones• Información externa• Diseño del estudio y metodología
3	Localizar los estudios: <ul style="list-style-type: none">• Registros• Bases electrónicas• Listas de chequeo y verificación• Información personal de expertos acreditados en el tema
4	Seleccionar los estudios: <ul style="list-style-type: none">• Deben poderse verificar por más de un observador• Deben resolver desacuerdos como desarrollo de estrategias• Deben retirarse estudios por razón de exclusión
5	Evaluar la calidad de los estudios: <ul style="list-style-type: none">• Formatos predeterminados o listas de chequeo

6	Extractar datos: <ul style="list-style-type: none"> • Gráficas de efectividad clínica “forest plot”
7	Hacer análisis estadístico: <ul style="list-style-type: none"> • Exploración de heterogeneidad • Determinación de características operativas y tipos de sesgos mediante “funnel plot”, entre otros.
8	Interpretar los resultados: <ul style="list-style-type: none"> • Publicaciones incluidas y sesgos relacionados con el tema • Implicaciones económicas • Posibles estudios futuros

Adaptado de: Egger et al., 2001 (7)

En el caso de brotes alimentarios, la RSL puede aportar nueva información sobre el alitame como aditivo causante de Enfermedad Transmitida por Alimentos (ETA), nuevos alimentos implicados y grupos poblacionales de riesgo, que ayuda a la comunidad científica y entidades de salud pública a mejorar los procesos de recolección continua y sistemática de datos, análisis, interpretación y difusión de la información, para mejorar las acciones a que haya lugar en los programas de vigilancia.

El objetivo de este trabajo fue revisar los estudios observacionales y descriptivos, y de casos y controles en los cuales se reportaran efectos en salud por ingestión de alimentos procesados que contuvieran alitame como edulcorante. Se buscaron artículos publicados en español, inglés, francés, alemán y portugués publicados desde el año 2000 hasta 2010.

Estrategia de búsqueda y selección de artículos

Se utilizaron las bases de datos MEDLINE, PUBMED, SCIENCE DIRECT, Scielo, Biblioteca virtual en salud (BVS) y Highwire. La búsqueda se realizó en los idiomas español, inglés y portugués. No hubo restricción respecto a la edad, país o zona geográfica, hábitos de consumo.

Adicionalmente se consultaron boletines epidemiológicos del Instituto Nacional de Salud (INS; Colombia) (<http://www.ins.gov.co>), Center Diseases Control (CDC, Estados Unidos) (<http://www.cdc.gov>), Eurosurveillance (<http://www.eurosurveillances.org>), y Health Agency of Canadá (<http://www.phac-aspc.gc.ca/index-eng.php>). También se consultaron las páginas web oficiales de la U.S. Food and Drug administration (FDA), Organización Mundial de la Salud (OMS) (<http://www.who.int/es/>), Organización Panamericana de la Salud (OPS) (<http://new.paho.org/col/>), y el Departamento de Salud del Reino Unido (<http://www.dh.gov.uk/en/index.htm>). Para la búsqueda se utilizó una combinación

de encabezados temáticos y palabras de texto con el nombre del edulcorante en diferentes alimentos y los efectos en salud debido a la ingesta de éstos.

Una vez recuperados los documentos dados por la búsqueda, se revisaron los títulos y resúmenes de cada uno con los criterios de búsqueda establecidos y detallados anteriormente. Luego de seleccionaron los estudios que parecían cumplir con los criterios de inclusión y de los que en los datos suministrados en el título o resumen eran suficientemente claros para tomar una decisión, se diligenció el formato de lista de chequeo y una vez evaluada la calidad del artículo fue incluido o excluido del estudio.

Se excluyeron los artículos con las siguientes características:

- Para estudios descriptivos:
 - Con fallas metodológicas mayores, no especifican el tipo de aditivo o no indican los efectos en la población
- Los que contemplan alimentos con aditivos diferentes a los edulcorantes
- Con doble publicación de editoriales

Estrategia para la búsqueda en las bases de datos seleccionados

Para la búsqueda se utilizó una combinación de encabezados temáticos y palabras de texto que se presentan en la Tabla 2*.

Tabla 2. Palabras utilizadas en la búsqueda en las bases de datos seleccionadas.

Términos en Español	Términos en Inglés
Aditivo	<i>Additive</i>
Alitamo	<i>Alitame</i>
Australia	<i>Australia</i>
Decoración y revestimientos de pastelería fina	<i>Bakery and wall decoration</i>
Caldos	<i>Broth</i>
Cáncer	<i>Cancer</i>
Hortalizas confitadas	<i>Candied vegetables</i>
Caramelos dulces y blandos	<i>Candy and soft candy</i>
Frutas en conserva	<i>Canned fruits</i>
Carcinogénico	<i>Carcinogenic</i>
Goma de mascar	<i>Chewing gum</i>
Sucedáneos del chocolate	<i>Chocolate substitutes</i>
Productos de cacao y chocolate	<i>Cocoa and chocolate products</i>
Leche de coco	<i>Coconut milk</i>
	<i>Codex Alimentarius</i>

Concentrado para néctar de hortalizas	<i>Concentrated for vegetable néctar</i>
Concentrado para néctar de frutas	<i>Concentrated fruit néctar</i>
Aderezo	<i>Deressing</i>
Postres a base de agua con aroma de fruta	<i>Desserts made with fruit-flavored water</i>
Diabetes	<i>Diabetes</i>
Alimentos dietéticos para usos medicinales	<i>Dietary foods for special medical purposes</i>
Bebidas	<i>Drinks</i>
Postres a base de huevos	<i>Egg based desserts</i>
Huevo	<i>Eggs</i>
Salsas emulsionadas	<i>Emulsified sauces</i>
Inducción enzimática	<i>Enzyme induction</i>
Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria	<i>European Food Safety Authority (EFSA)</i>
Unión Europea	<i>European Union</i>
Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura	<i>FAO</i>
Productos de panadería fina (dulce, salado, aromático y néctar)	<i>Fine bakery products</i>
Alimento	<i>Food</i>
Enfermedad Transmitida por Alimentos (ETA)	<i>Foodborne illness</i>
Revestimiento de frutas	<i>Fruit coating</i>
Néctar de frutas	<i>Fruit néctar</i>
Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios (GSFA)	<i>Codex General Standard for Food Additives (GSFA)</i>
Hepático	<i>Hepatic</i>
	<i>In vitro</i>
Ingesta diaria admisible (IDA)	<i>Acceptable Daily Intake (ADI)</i>
Intoxicación	<i>Intoxication</i>
Confituras	<i>Jams</i>
Mermeladas	<i>Jams</i>
Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA)	<i>Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)</i>
Jaleas	<i>Jellies</i>
Mayonesa	<i>Mayonnaise</i>
Néctar	<i>Nectar</i>
Nueva Zelanda	<i>New Zealand</i>
Turrone	<i>Nougat</i>
OMS	<i>OMS</i>
Brote	<i>Outbreak</i>
Envenenamiento	<i>Poisoning</i>
Productos para untar en emparedados.	<i>Products to spread on sandwiches</i>
Pulpa	<i>Pulp</i>
Algas marinas	<i>Seaweed</i>
Sopa	<i>Soup</i>

Productos para untar	<i>Spreadable products</i>
Salsas dulces	<i>Sweet sauces</i>
Edulcorantes	<i>Sweeteners</i>

*Las búsquedas realizadas en las bases de datos, se realizaron combinando los términos mencionados anteriormente, en idioma inglés.

Operador booleano: AND / OR (y/o)

Age group: all

La elegibilidad de los estudios estuvo sujeta a la información provista sobre alimentos involucrados y alitame.

Extracción de datos y cálculos secundarios.

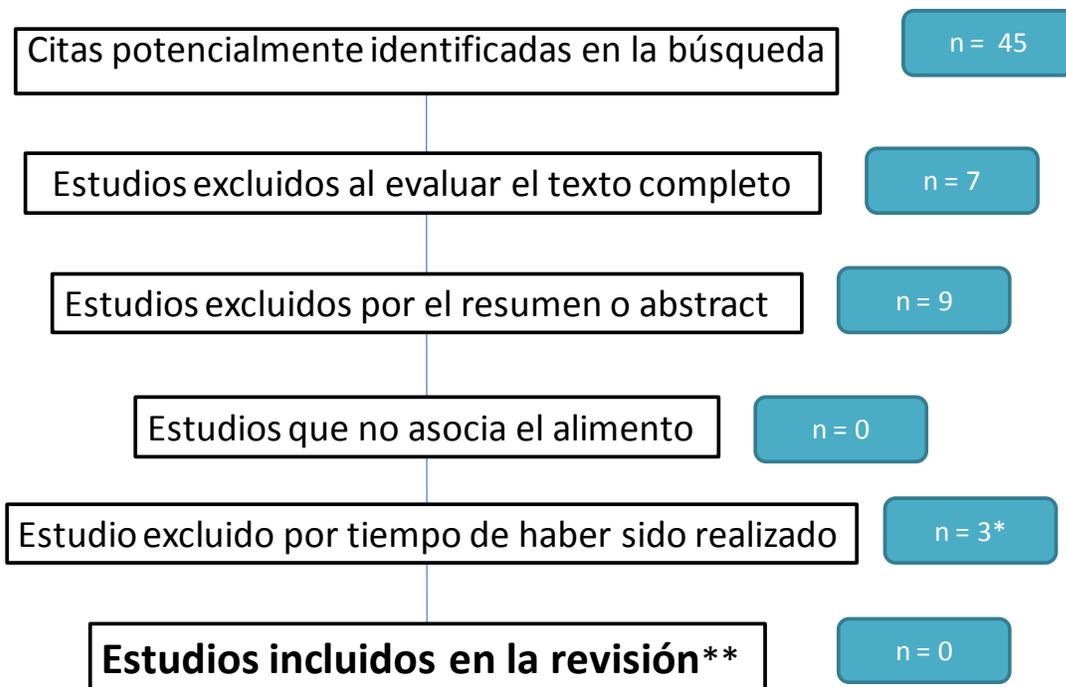
Una vez seleccionado el estudio se tomarían los datos de: lugar del brote, número de casos, número de expuestos, definición de caso, número de hospitalizados, número de muertes, tipo de alimento involucrado que tuviera alitame como edulcorante. Con la información sintetizada, se elaboraría un cuadro de resumen.

RESULTADOS

La búsqueda de la literatura realizada a la fecha no permitió encontrar artículos sobre efectos en salud asociados al consumo de alimentos que contuvieran alitame.

Las causas de la exclusión de los 45 artículos restantes se explican en la figura 1.

Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de selección de los estudios para la revisión sistemática de la literatura



** Para efectos de la Revisión sistemática de literatura planteada en el objetivo del estudio, acorde con los criterios de inclusión y exclusión, no se encontró en las bases de datos, ningún artículo que relacionará intoxicación directa o casos clínicos relacionados por consumo de alimentos con alitame en humanos. Sin embargo, las fuentes bibliográficas arrojadas por las búsquedas de literatura, permitieron encontrar información que fue utilizada en la conformación de la discusión del presente documento.

* Los tres estudios relacionados, excluidos por tiempo de publicación, se incluyen en la tabla 3.de la presente revisión.

De acuerdo con las bases de datos consultadas, en los últimos 10 años no se encontraron estudios sobre los efectos en salud asociados al consumo de alimentos con alitame, sugiriendo que esta sustancia no esta asociada a efectos agudos en salud ocasionados por la ingesta de alimentos con alitame y que los posibles casos que se pudieran presentar se deben a exposición crónica, sin embargo dado el tiempo reciente de uso de este aditivo no se reportan estudios de este tipo.

Extracción de datos y cálculos secundarios.

Dado que los resultados que arrojaron las búsquedas no permitieron la selección de ningún estudio, no fue posible extraer las variables como: lugar del brote, número de casos, número de expuestos, definición de caso, número de hospitalizados, número de muertes, tipo de alimento involucrado que tuviera alitame como edulcorante.

Distribución geográfica de los estudios.

No se presenta distribución geográfica de los resultados dado que no hay artículos reportados sobre el evento en estudio.

Análisis.

A pesar del tiempo de desarrollo del alitame (mayor a 30 años) como aditivo alimentario en la clasificación de edulcorante sintético no calórico, su uso es relativamente reciente y en pocos países. Por lo anterior, la información sobre los efectos en salud está circunscrita a la presentada por la empresa propietaria de la molécula para obtener el registro como aditivo. Esta información, hasta el momento se ha considerado insuficiente y además ha tenido limitaciones en el análisis estadístico. No se han realizado estudios epidemiológicos de cohortes, casos y controles y/o descriptivos, para asociar la presentación de efectos en salud (no deseados o tóxicos) al consumo; estas son las razones por las cuales no es posible aplicar la metodología (incluyendo la evaluación estadística) exigida por una RSL.

DISCUSIÓN

En el mundo se han descrito dos grupos generales de edulcorantes artificiales, los de primera generación que comprenden sacarina, ciclamato y aspartame, y los de segunda generación que incluyen a alitame y a otros edulcorantes como acesulfame K, sucralosa y neotame (8).

El alitame es un edulcorante artificial utilizado como aditivo en alimentos debido a su alto poder endulzante. Se usa en alimentos procesados o productos terminados en los que reemplaza a la sacarosa.

El Codex alimentarius – ALINORM 08/31/12, en la 31^{ava} sesión de Mayo de 2008, realizó la revisión de algunos aspectos de edulcorantes sintéticos como el alitame. El Comité anotó que en Estados Unidos y Malasia los ciclamatos, el alitame y el neotame no fueron aprobados. De igual forma la información disponible indicaba que en la Comunidad europea y Noruega no ha sido aprobado los ciclamatos (9). Por su parte la Secretaría de la JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) evaluó y estableció el valor máximo en alimentos de 300 mg/kg, anotando las reservas de las delegaciones citadas anteriormente (10). En la recomendación 4^a del mismo documento solicita continuar la revisión del alitame para los alimentos de la categoría 01.4.4 debido a que requieren mayor exploración (9).

En el documento Codex General standard for food additives, discontinuation of work on draft and proposed draft food additive provisions, el cual es de carácter informativo, el alitame figura recomendado para los alimentos enunciados en la siguiente tabla:

Tabla 3. Palabras utilizadas en la búsqueda en las bases de datos seleccionadas.

No. Categoría de alimento	Categoría de alimento	Dosis máxima	Apéndice
01.2	Productos lácteos fermentados y cuajados (naturales), excluida la categoría de alimentos 01.1.2 (bebidas lácteas)	60 mg/kg	IV
07.1	Pan y productos de panadería ordinaria	200 mg/kg	IV
12.2	Hierbas aromáticas, especias, aderezos y condimentos	100 mg/kg	IV
01.4.4	Productos análogos a la nata (crema)	100 mg/kg	VI

Fuente: CODEX,2008 (9).

Para el grupo de alimentos categorizados en el numeral 1.4 alimentos horneados, bebidas calientes y frías, productos lácteos, postres congelados, preparaciones a base de fruta, gomas de mascar, dulces, endulzantes de mesa y productos farmacéuticos, se encuentra pendiente su autorización de uso (11).

Por su parte el Comité conjunto de la FAO/OMS revisó los aspectos toxicológicos del alitame, para tal efecto se presentaron las especificaciones y la monografía en la reunión 44 del año 1995. Sin embargo, no fue posible asignar la Ingesta Diaria Admitida - IDA porque para ese momento los estudios de carcinogenicidad se consideraron deficientes (12).

En la reunión 46 del año 1996 del mencionado Comité, se contó con estudios a largo plazo de supervivencia en animales y un mayor análisis estadístico, con lo que se concluyó que no había evidencia de que el alitame fuera carcinogénico y se asignó una IDA de 0-1 mg/kg peso corporal (pc) teniendo en cuenta el NOEL de 100 mg/kg/pc/día determinado en un estudio de 18 días en perros. Sin embargo, se consideró la necesidad de conocer los resultados del estudio de tolerancia a 90 días en diabéticos, por lo cual la decisión acerca de la aceptación

de la IDA asignada fue pospuesta. Para el momento de la reunión tampoco se disponía de datos sobre ingesta dietaria, sin embargo, se consideró que si el alitame estuviera presente en todos los alimentos, el nivel máximo basado en la IDA asignada, sería de 40 mg/kg (10).

En junio de 2002, JECFA aplazó el establecimiento de la IDA y realizar otras recomendaciones toxicológicas hasta que se contara con los hallazgos proporcionados por estudios de tolerancia a 90 días (10).

Acorde con la Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios (General Standard for Food Additives – GSFA) el nivel máximo de alitame de puede ser hasta de 300 mg/kg para diversos alimentos, bebidas y endulzantes de mesa (9).

La evaluación nacional de ingesta y registros individuales de la GSFA obtenidos en Australia y Nueva Zelanda mostraron que la ingesta de alitame puede ser excedida por algunos consumidores hasta un 148% en Australia y un 140% para Nueva Zelanda, siendo los alimentos implicados los productos dulces horneados como los de panadería. Se considera que las estimaciones hechas pueden estar aumentadas debido a que se asume que el alitame estaría presente en la mayoría de alimentos de la dieta. Debido a que solo se dispone datos de estos dos países, el Comité requiere mayor información para definir la IDA y los límites máximos. En este Comité también se revisaron las especificaciones del producto y se incorporó el límite de metales pesados (10).

En ese orden de ideas, otros estudios toxicológicos realizados hasta el momento para el alitame corresponden principalmente a los exigidos por la FDA como requisito para su aprobación como aditivo alimentario. La evaluación realizada hasta el momento sobre los posibles efectos tóxicos agudos y crónicos, han sido llevados a cabo principalmente en animales. Los resultados de estos estudios no indicaron efectos genotóxicos y carcinogénicos de los edulcorantes de segunda generación como el alitame (8).

Desde 1986 se solicitó a la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos, el uso del alitame como edulcorante, en productos horneados, bebidas y productos de confitería. Sin embargo, en la lista publicada en enero de 2003 figura como aditivo suspendido debido a que la información revisada en ese momento se consideró incompleta. La IDA solicitada para el alitame usado como edulcorante único fue de 0,34 mg/kg/pc/día. El NOAEL en animales fue de 100 mg/kg (13).

Para el caso de otros países como Canadá no se ha establecido el uso del alitame como aditivo para alimentos, se estima una IDA de 0,34 mg/kg/pc, encontrándose como limitaciones la alteración del sabor en soluciones ácidas a temperaturas altas y la información limitada sobre efectos en humanos (1).

Por otro parte, el Comité de Toxicidad, Mutagenicidad y Carcinogenicidad de químicos en alimentos de Gran Bretaña (COT), revisó por primera vez el alitame en 1989. A petición de otros cuerpos regulatorios se reunió y revisó mayor información sobre este aditivo entre 1990 a 1994 y en 1998, cuando estableció un IDA de 0,3 mg/kg/pc/día, la cual se confirmó en 1999 teniendo en cuenta nueva información proporcionada por los fabricantes del producto.

Para la estimación de la IDA se tuvo en cuenta el aumento en el peso del hígado de perros alimentados con alitame durante 18 meses. El COT definió un LOAEL de 100 mg/kg/pc/día y un NOAEL de 30 mg/kg/pc/día. Para la valoración de estos parámetros se consideró un factor de seguridad (incertidumbre) de 10 teniendo en cuenta la variación entre especies y 10 para la variación entre individuos (14). Cuando se consideró como efecto adverso la inducción enzimática, el NOAEL fue de 100 mg/kg/pc/día (14).

Otros efectos revisados se derivaron de un estudio realizado en pacientes diabéticos a los cuales se les administró alitame a una dosis de 10 mg/kg/pc durante 90 días y se reportaron complicaciones cardiovasculares en algunos

individuos en los grupos de experimentación y de control quienes recibieron placebo. En el 2000, la compañía fabricante envió a la agencia los resultados de otro estudio más completo realizado en pacientes diabéticos con igual dosificación a la del estudio anterior. Se revisaron de manera especial los efectos cardiovasculares y se concluyó que el alitame se toleró bien en estos pacientes durante el tiempo de estudio de un año, por lo cual solicitaron el aumento de la IDA. Sin embargo, el COT manifestó que este estudio no incluyó la evaluación de la inducción enzimática y que el análisis estadístico de los datos era cuestionable.

En el 2001, el COT revisó la información adicional presentada por la compañía del estudio en diabéticos, la cual incluyó mayor análisis estadístico y los datos de los parámetros de la clínica química, para este momento ya no estaban disponibles muestras biológicas para otros análisis. Sin embargo, el COT consideró que los aspectos relacionados con los efectos en la inducción enzimática no se habían considerado (14).

Teniendo en cuenta que la IDA se definió con base en el aumento del peso del hígado en perros, es conveniente conocer la sensibilidad del hígado humano a la inducción enzimática comparada con la de los perros.

Finalmente el COT consideró que la nueva información proporcionada no ameritaba una revisión de la IDA (14).

La información disponible sobre el uso del alitame en alimentos, refiere a Renwick quien en el 2006 (15), concluyó que el promedio y el percentil 95 del consumo de edulcorantes artificiales acesulfame K, aspartame, ciclamato y sacarina eran menores a los valores de IDA en adultos para los países estudiados de la comunidad europea. Sin embargo, con relación a las nuevas moléculas de edulcorantes como sucralosa y alitame, debido a la reciente comercialización encontró que no existían suficientes datos que permitieran estimar la IDA. Estos estudios indicaban que la estimación de la ingesta de un aditivo alimentario

aprobado es un proceso complejo y costoso y que el diseño de este tipo de estudios deben comprender al menos los siguientes aspectos: a) estudios poblacionales, con un tamaño de muestra suficientemente grande, con definición de los percentiles a considerar y tener en cuenta grupos poblacionales de interés como los diabéticos, las mujeres embarazadas y los niños, b) estimar la ingesta de los alimentos, para lo cual se requiere conocer los productos que contienen el aditivo, las porciones consumidas, el peso de las porciones y la variabilidad de productos y aditivos, solos o en mezcla que se pueden encontrar el mercado, c) composición del producto, obtenida por medición directa o asumiendo el valor máximo del edulcorante en el producto comercial (15).

Renwick en el 2008 (16), detalló en su artículo la IDA para los edulcorantes artificiales de mayor uso actualmente, como acesulfame, aspartame, alitame, ciclamato, sacarina y sucralosa, en diferentes países de América (Estados Unidos, Canadá, Brasil), Europa (Finlandia, Reino Unido, Alemania, Dinamarca, España, los países bajos, Noruega, Dinamarca, Italia, Francia), Australia, Nueva Zelanda y Corea. Es de resaltar que este autor indica que no hay IDA oficial establecida en los países mencionados de acuerdo a los artículos revisados en esta publicación.

En el artículo de revisión de Weihrauch y Diehl (8) extraídos de PubMed sin restricción de tiempo y publicados en idioma inglés, se revisaron los posibles efectos cancerígenos de los edulcorantes artificiales, utilizados solos o en mezclas. El uso de mezclas de aditivos es común en la industria de alimentos por la sinergia en el poder edulcorante y la disminución de otros efectos adversos sobre el sabor, especialmente el sabor residual amargo aportado, entre otros por la sacarina, aditivo para el cual se han publicado más de 50 estudios en ratas para observar los efectos en una o más de una generación.

Los estudios epidemiológicos realizados en consumidores han evaluado los efectos debidos al “consumo de edulcorantes sintéticos”, más que a los efectos de una molécula individual, debido a la tendencia en la industria de utilizar mezclas

de estas sustancias y a que el consumidor relata el consumo genérico de edulcorantes y no de uno de ellos en particular. Los estudios más relevantes han sido los de casos y controles y fueron publicados en años anteriores a 2000, época en la que se registra mayor cantidad de estudios publicados. Weihrauch y Diehl (8), resumen estos estudios los cuales se presentan en la tabla 3.

Tabla 4. Estudios Epidemiológicos en el consumo de edulcorantes sintéticos

Tipo de edulcorante	Tipo de estudio población y muestra	Resultados del estudio	Fecha del estudio y Referencia
Edulcorantes en general	350 pacientes con cáncer de vejiga	No se encontró aumento significativo del riesgo para cáncer de vejiga por el uso de edulcorantes artificiales	1965 a 1986, Revisión de Weihrauch y Diehl, 2004 (8).
	622 casos prevalentes con cáncer de vejiga y 219 incidentes, con controles hospitalarios apareados por edad y sexo Consumo de edulcorante mayor a un año en los 5 años anteriores al diagnóstico	En cáncer de vejiga se encontró el siguiente RR: Hombres no fumadores: RR 2,2 - IC _{95%} [1,3-3,8] Mujeres no fumadoras: RR 1,6 - IC _{95%} [0,8-3,2] En fumadores no se encontró aumento del RR	Piper <i>et al.</i> , 1986 (17) en el Reino Unido.
	1860 pacientes con cáncer de vejiga y 3934 controles Se categorizaron los consumidores en dos grupos: Bajo: consumo menor a 1680 mg/día Pesados: Mayor a 1680 mg/día	En cáncer de vejiga se encontró el siguiente RR Consumidores pesados (31 pacientes y 78 controles) RR 1,3 - IC _{95%} [0,9-2,1] Consumo de café alto (> 50 tazas/semana) RR 1,4 - IC _{95%} [1,1-1,7] Relacionado con el consumo de edulcorantes artificiales Historia de una o dos infecciones del tracto urinario RR 1,3 - IC _{95%} [1,1-1,7] Se realizó estudio histológico mostró que el uso de edulcorantes artificiales se asoció en mayor grado con tumores pobremente diferenciados.	Sturgeon <i>et al.</i> , 1994 (18). Se tuvo en cuenta otros factores como fumar, infecciones del tracto urinario, consumo de café, historia previa de cistolitiasis y predisposición genética para el riesgo de inducir cáncer de vejiga.
Sacarina, aspartame y edulcorantes en general, no se describe específicamente el alitame.	Casos y controles entre 1991 y 2004 en Italia. Casos: 598 pacientes con incidencia de cáncer de la cavidad oral y faringe, esófago, colon, recto, laringe, mama, ovario, próstata y riñón, confirmados por estudio histológico. Controles: 7028 pacientes	Sacarina: OR 0,83 IC _{95%} (0,30–2,29) - Ca de cavidad oral y faringe. OR 1,58 IC _{95%} (0,59–4,25) - Ca de esófago. OR 0,95 IC _{95%} (0,67–1,35) - Ca de colon. OR 0,93 IC _{95%} (0,60–1,45) - Ca rectal. OR 1,55 IC _{95%} (0,76–3,16) -	Gallus <i>et al.</i> , 2007 (19)

	admitidos en el mismo hospital por trastornos no neoplásicos o agudos	<p>Ca de laringe. OR 1,01 IC_{95%} (0,77–1,33) – Ca de mama. OR 0,46 IC_{95%} (0,29–0,74) – Ca de ovario. OR 0,91 IC_{95%} (0,59–1,40) – Ca de próstata. OR 0,79 IC_{95%} (0,49–1,28) – Ca de riñón.</p> <p>Los valores de OR para otros edulcorantes principalmente aspartame fueron menores a los de sacarina a excepción de Ca de laringe, ovario, próstata y riñón con valores ligeramente superiores.</p> <p>Se encontró una tendencia inversa significativa para Ca de mama, ovario y tendencia directa para Ca de laringe. Sin embargo, se concluye que no hay asociación entre el consumo de sacarina, aspartame y otros edulcorantes y el riesgo de presentar neoplasmas comunes severos.</p>	
--	---	--	--

De acuerdo a las publicaciones realizadas hasta el momento y consultadas, el riesgo de inducir cáncer es despreciable para las moléculas utilizadas como edulcorantes sintéticos (8).

En conclusión, sobre los efectos a largo plazo producidos por el alitame, debido a su uso como edulcorante e introducido como molécula de segunda generación, es demasiado reciente por lo cual no ha sido posible establecer evidencia epidemiológica de su riesgo de carcinogenicidad y presentación de otros efectos crónicos (8).

Bibliografía

1. Gougeon R, Spidel M, Lee K, Field C. Canadian Diabetes Association National Nutrition Committee technical review: Non-nutritive intense sweeteners in diabetes management. *Can J Diabetes*. 2004;28(4):385-99.
2. Zygler A, Wasik A, Namiesnik J. Analytical methodologies for determination of artificial sweeteners in foodstuffs. *Trends Anal Chem*. 2009;28(9):1082-102.
3. Kim C, Shin CS. Solvent-free enzymatic synthesis of alitame precursor using eutectic substrate mixtures. *Enzym Microb Tech*. 2001;28(7-8):611-6.
4. Mortensen A. Sweeteners permitted in the European Union: safety aspects. *Scand J Food Nutr*. 2006;50(3):104-16.
5. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <http://www.cdc.gov>. Consultado Mayo 2011.
6. WHO. International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. List of classifications. List of classifications by alphabetic order. Last update: 13 Apr 2011. Disponible en: <http://www.iarc.fr/en/websites/databases.php>. Consulta Mayo 2011
7. Egger M, Smith G, Altman D. Systematic Reviews in Health Care: Meta-Analysis in Context. Second Edition. London. UK. BMJ Publishing Group. 2001.
8. Weihrauch M, Diehl V. Artificial sweeteners—do they bear a carcinogenic risk? *Ann Oncol*. 2004;15(10):1460.
9. CODEX. ALINORM 08/31/12 May 2008 31st Session Report of the fortieth session of the CODEX committee on food additives Beijing, China 21-25 April 2008
10. WHO. Technical Report Series 913. Evaluation of certain food additives. 59th report. Joint FAO/WHO expert committee on food additives. 2002.
11. Whitehouse CR, Boullata J, McCauley LA. The potential toxicity of artificial sweeteners. *AAOHN Journal*. 2008;56(6):251.
12. FAO/WHO. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Sweetening. Agent: Alitame. WHO Technical Report Series. 44th report;1995:23-27.
13. Auerbach M, Locke G, Hendrick M, Nabors L. ADA Reports. Position of the American Dietetic Association: Use of Nutritive and Nonnutritive Sweeteners *J Am Diet Assoc*. 2004;104:255-27.
14. COT. Committees on Toxicity, Mutagenicity y Carcinogenicity of Chemicals in Food. Consumer Products and the Environment. Annual Report 2002. Disponible en: http://www.dh.gov.uk/prod_consum_dh/groups/dh_digitalassets/documents/digitalasset/dh_077338.pdf. Consultado Mayo 2011.
15. Renwick AG. The intake of intense sweeteners—an update review. *Food Addit Contam*. 2006;23(4):327-38.
16. Renwick A. The use of a sweetener substitution method to predict dietary exposures for the intense sweetener rebaudioside A. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(7):S61-S9.
17. Piper JM, Matanoski GM, Tonascia J. Bladder cancer in young women. *Am J Epidemiol*. 1986;123(6):1033.
18. Sturgeon SR, Hartge P, Silverman DT, Kantor AF, Linehan WM, Lynch C, Hoover RN. Associations between bladder cancer risk factors and tumor stage and grade at diagnosis. *Epidemiology*. 1994;5(2):218-25.
19. Gallus S, Scotti L, Negri E, Talamini R, Franceschi S, Montella M, Giacosa A, Dal Maso L, La Vecchia C. Artificial sweeteners and cancer risk in a network of case-control studies. *Ann Oncol*. 2007;18(1):40.
20. WHO/FAO. Food Additives Series: 50 Safety evaluation of certain food additives. Fifty-ninth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Genova,2003. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v50je01.htm>. Consulta Mayo 2011.
21. Spillane WJ, Thompson EF. The effect on taste upon the introduction of heteroatoms in sulphamates. *Food Chem*. 2009;114(1):217-25.
22. Abbott P. Alitame: WHO Food Additive Series 35. 1995. Disponible en: www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v35je11.htm. Consultado: Mayo 2011.
23. Torres D. Informe: Edulcorantes No Nutritivos. Pro BSN Consulting Group. 2007.
24. Assadi-Porter FM, Tonelli M, Maillet E, Hallenga K, Benard O, Max M, Markley JL. Direct NMR detection of the binding of functional ligands to the human sweet receptor, a heterodimeric family 3 GPCR. *J Am Chem Soc*. 2008;130(23):7212-3.
25. Greenly LW. A doctor's guide to sweeteners. *J Chiropr Med*. 2003;2(2):80.
26. Wasik A, McCourt J, Buchgraber M. Simultaneous determination of nine intense sweeteners in foodstuffs by high performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection--Development and single-laboratory validation. *J Chromatogr A*. 2007;1157(1-2):187-96.
27. Zygler A, Wasik A, Kot-Wasik A, Namie nik J. Determination of nine high-intensity sweeteners in various foods by high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection. *Anal Bioanal Chem*. 2011;400(7):1-14.
28. Thompson CO, Craige V, Kemmerly B. Micellar electrokinetic capillary chromatographic determination of artificial sweeteners in low-Joule soft drinks and other foods. *J Chromatogr A*. 1995;694(2):507-14.

ANEXO

ALITAME

CONTENIDO

1. ADITIVO. INDICACIÓN DE USO

El Alitame o alitamo es un aditivo alimentario, de acuerdo a la clasificación de aditivos de la JECFA está categorizado como un edulcorante sintético con una potencia endulzante 2000 veces mayor que la de la sacarosa (1, 20). Este poder endulzante es debido a que el anillo tioetano del alitame contiene un átomo de azufre, el cual mejora el poder edulcorante, se ha estudiado que esta sustitución aumenta 7 veces este poder con respecto al análogo carbonado (21). El número de identificación como aditivo en el Codex alimentarius es INS 956 y en la EFSA E956 (20).

Tiene un sabor dulce limpio por lo que se usa en mezcla con otros edulcorantes sintéticos con el fin de eliminar los sabores residuales de estos, especialmente el metálico, tiene efecto sinérgico cuando se combina con otros edulcorantes artificiales (4).

Puede ser utilizado en una amplia gama de alimentos y bebidas, como edulcorante de mesa, gaseosas, derivados lácteos, postres, productos que contienen fruta, productos horneados, goma de mascar y otras confituras y dulces (4).

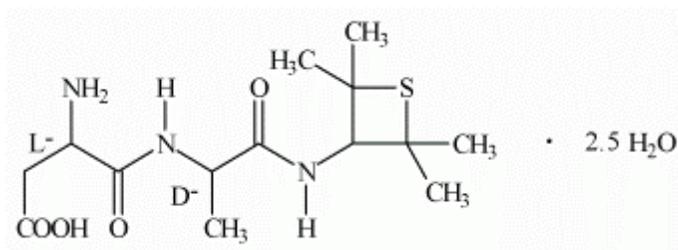
2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

Desde el punto de vista físico el alitame es un polvo cristalino, inodoro o con un ligero olor característico (20).

Desde el punto de vista químico la molécula está formada por un dipéptido del ácido L-aspartico y D-alanina, con un radical N- sustituido-amina tetrametiltietanil (20).

Su nombre químico corresponde a L- α -Aspartil-N-(2,2,4,4-tetrametil-3-tietanil)-D-alaninamide (1). El número CAS es 80863-62-3 para la forma anhidra y 99016-42-9 para la forma hidratada. La estructura química del alitame en su forma hidratada se muestra en la figura 1 (22).

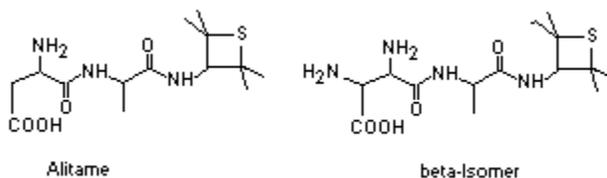
Figura 1. Estructura química del alitame en forma hidratada. (Pfizer)



La formula química es $C_{14}H_{25}N_3O_4S \cdot 2.5 H_2O$, con un peso molecular de 376,5 Es soluble en agua y etanol (10). Tiene buena estabilidad a temperaturas elevadas y en un rango amplio de pH (20). Además del alitame, durante la degradación se forma el isómero beta por el reordenamiento en la estructura de la molécula. (COT). El límite del isómero beta en el producto terminado es no mayor a 0,3% en base seca (10).

Las estructuras químicas del alitame y del isómero beta se muestran en la figura 2.

Figura 2. Estructuras químicas del alitame y del isómero beta. (Pfizer)



3. ASPECTOS RELACIONADOS CON EL DESARROLLO DEL PRODUCTO

El alitame fue desarrollado en 1979 por Pfizer (22), se propuso su uso como edulcorante a principios de la década de los 80 (22).

Se sintetiza a través de una reacción de múltiples pasos entre 2 intermediarios, el (S)-[2,5-dioxo-(4-tiazolidina)] ácido acético y el (R)-2-amino-N-(2-(2,4,4-tetrametil-3-tietanil)propanamida; el producto final se forma como un aducto del ácido bencensulfónico, el cual se purifica en etapas sucesivas y se recristaliza finalmente en agua (22).

4. MECANISMO DE ACCIÓN

El alitame interactúa con el T1R2 en la hendidura, proponiéndose que la ocupación de múltiples sitios superpuestos presentes en la hendidura conduce a la activación del receptor.

La familia de receptores acoplados a proteína G, incluye el receptor dulce, el cual consiste en dos subunidades heterodiméricas T1R2 y T1R3. Cada subunidad T1R contiene un dominio extracelular llamado VFTM (Venus FlyTrap Module) unido por un CRD (Dominio Rico en Cisteína) a siete TMD (Dominios Trans.Membrana).

El receptor dulce interactúa con diversos ligandos sintéticos y naturales a través de sitios de enlace múltiples, ya mapeados en por lo menos 4 dominios del receptor (24).

5. CINÉTICA

El alitame es producido por la unión de dos aminoácidos, el ácido L-aspártico y la D-alaninamida, por lo cual durante su metabolismo, el ácido L-aspártico se

metaboliza de manera normal, mientras que la D-alaninamida no sufre transformaciones y se elimina sin cambio del organismo (25).

La información relacionada con la cinética del alitame se basa en los estudios realizados por la empresa que desarrolló la molécula y fueron realizados con el fin de presentarlos a las autoridades regulatorias para su aprobación como edulcorante para consumo humano (10).

A. Estudios sobre absorción y excreción del alitame

Tabla 1. Estudios sobre absorción y excreción del alitame

Animal	Producto administrado y tratamiento	Dosis y forma de administración	Efectos
Ratones	Alitame marcado radioactivamente	Sonda 50 mg/kg en agua destilada	77% radioactividad en orina 24 horas después de la administración, el 50% excretado luego de 4 a 20 horas después
		Oral 350 mg/kg	60% excretado en orina 32% en heces
Ratas	Alitame Muestras recolectadas 7 días post-tratamiento	Cánula vía biliar se administró una sola dosis de 50 mg / kg	Orina 60% Heces 32% Bilis 14% Tejidos 0.08 mg/kg hasta el día 29%
Perros	Alitame: Muestras recolectadas por intervalos de 2-4 horas por 7 días	Cánula biliar una única dosis (10 mg/kg)	Orina:86% Heces: 10%
		Cánula estomacal introducida quirúrgicamente (10 mg/kg)	La excreción biliar fue de 0.2-0.3% Urinaria: 36%
		Oral 5-25 mg/kg	Orina: 94-98% Heces: 3-4%
	Examen de toxico	Inyección intra -	Los niveles en sangre

	cinética, se tomaron muestras de sangre 72 horas después y las muestras de orina fueron recolectadas en intervalos de 2-4horas.	venosa de 10mg/kg	empezaron a disminuir a partir de los 34 minutos hasta las 4 horas. Orina: 80% Heces:60 %, en las primeras 24 horas
--	---	-------------------	---

Fuente: monografía de la molécula de Pfizer® (22).

Se realizaron estudios con el fin de evaluar el potencial del producto para traspasar las barreras placentarias y la acumulación en leche y se pudo determinar que administrado a hembras preñadas una dosis única (1000mg/kg) dio como resultado altos niveles de radiactividad tanto en el feto como en el suero de la hembra. No se encontraron residuos de alitame en leche.

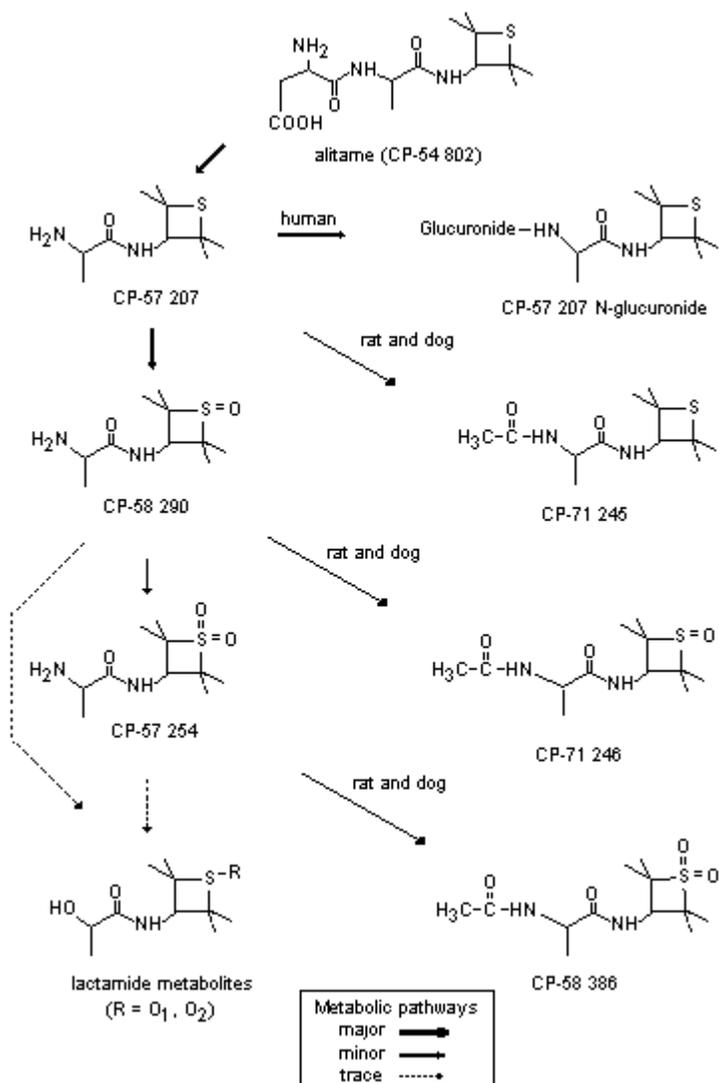
También se llevó a cabo un estudio en perros con el fin de determinar el sitio de hidrólisis del alitame, (hígado e intestino), encontrando que el 50% de la radiactividad se presentó en intestino, el metabolito, la amida tetrametiltioetano alanina se incrementó del 12% al 38% durante más de 2 horas en este órgano.

Estudios realizados en humanos a los cuales se les administró alitame en dosis de 50mg/kg, se encontraron niveles plasmáticos de radiactividad que alcanzaron su punto máximo entre los 8 y 18 h, éstos disminuyeron rápidamente en las siguientes 48 h, lo que indica una absorción lenta pero extensa, seguida por la eliminación rápida. La radiactividad urinaria fue del 50% excretada las primeras 24 horas. Los metabolitos urinarios principales fueron tetrametiltioetano-alanina-sulfóxido-amida (CP-58,290) y alanina- amida-tetrametiltioetano-glucuronido. Entre los metabolitos menores se encontraron amida-tetrametiltioetano-alanina y sulfona-alanina-amida tetrametiltioetano (CP-57, 254). El Alitame sin modificar representó menos del 1% de la radioactividad urinaria total.

La eliminación fecal representó el 7-10 % de la dosis total. En las heces, toda la radiactividad se debió al alitame sin cambios (CP-54, 802) y a la alanina-tetrametiltioetano-amida (CP-57, 207).

En el plasma, la mayor parte de la radiactividad (80%) estuvo representada en la tetrametiltioetano-alanina (CP-57, 207) y su glucurónido. A diferencia de las ratas y los perros, el principal metabolito urinario de humanos fue el glucurónido de la amida-tetrametiltioetano-alanina (22).

Figura 3. Rutas metabólicas del alitame en humanos y diferentes especies animales. (Pfizer)



Fuente: monografía de la molécula de Pfizer® (22).

B. Estudios de Biotransformación

Los estudios de biotransformación realizados en animales de experimentación y los resultados obtenidos se muestran en la tabla 2

Tabla 2. Estudios de biotransformación de alitame en animales de experimentación

Animal	Dosis	Metabolitos identificados
Ratones	50 mg/kg de alitame (dosis oral única)	Tetrametiltioetano-D-alanina-amida sulfóxido (CP-58, 290; 64,3%), amida- tetrametiltioetano-D-alanina (CP-57, 207; 24,7%), y alitame sin cambio (0,9%). El 10,1 % de los otros metabolitos no fueron identificados. La radiactividad fecal fue: 39,5% alitame sin cambios (CP-54, 802), 51,5% amida tetrametiltioetano-D-alanina (CP-57, 207) y el 4,6% no fue identificado
Ratas	50 mg/kg de alitame (dosis oral única)	El principal metabolito fue sulfóxido- alanina-amida-tetrametiltioetano (CP-58, 290), 70% de la radiactividad total) En en orina, el principal metabolito fue sulfóxido-alanina- amida- tetrametiltioetano (CP-58, 290, 75-80%), en forma libre y acetilada, con alitame sin transformar en el 1% de la radiactividad total. En heces, el producto principal fue alitame sin cambios (CP-54, 802, 70% de la radiactividad), seguido de amida- tetrametiltioetano-alanina (CP-57, 207, 23%).
	En lactantes	Los metabolitos en la leche fueron sulfóxido-alanina- amida- tetrametiltioetano (CP-58, 290) y su forma acetilada (54,4%), amida-tetrametiltioetano-alanina (CP-57, 207; 31,4%), y alitame sin cambios (1%)
Perros	5- 25 mg/kg de alitame (dosis oral única)	El principal metabolito fue la alanina amida-tetrametiltioetano-sulfóxido (CP-58, 290, 80%),

		<p>10% en forma acetilada, 5% sin transformación. Su perfil metabólico fue similar al observado en ratas.</p> <p>En orina, el principal metabolito fue alanina-sulfóxido-amida-tetrametiltioetano (CP-58, 290, 80%), el 9,5% en forma acetilada y aproximadamente entre 5 a 15% sin cambio.</p> <p>En heces se identificó una mezcla de alitame sin cambios (CP-54, 802) y alanina-tetrametiltioetano-amida (CP-57, 207).</p>
--	--	---

Fuente: monografía de la molécula de Pfizer® (22).

C. Estudios *in vitro*

Los estudios de Pfizer® (22), indican que el alitame es estable en jugo gástrico; así mismo, que el homogenizado intestinal escinde el enlace peptídico del alitame y se mostró poca evidencia de pasos metabólicos adicionales como oxidación, sulfuración y acetilación.

D. Estudios de inducción enzimática (Efectos sobre las enzimas de hígado)

- **Ratas**

Un estudio previo de Pfizer® estimó el efecto de la ingestión de alitame en dosis diarias de 100 a 500 mg/Kg de peso corporal sobre la actividad de las enzimas hepáticas O-desmetilasa, citocromo c reductasa y P-450; sin embargo a esta dosis no se demostró algún efecto.

El efecto sobre O-desmetilasa fue medido tras la ingestión de alitame en dosis hasta de 2000 mg/kg de peso corporal y de sus metabolitos alanina- amida-tetrametiltioetano (CP-57, 207) o su sulfóxido (CP-58, 290) en dosis de 100 a 500 mg/kg/pc; adicionalmente, se administró fenobarbital a 50 mg/kg/pc; todos en dosis únicas durante 5 días. Como resultado, se observó que la actividad enzimática tras la ingestión de alitame o sus metabolitos en dosis de 500 mg fue el

doble de la que presentaban los controles sin intervención.

Los estudios evidenciaron un aumento del peso del hígado, el cual se asoció con incremento significativo de las enzimas microsomales hepáticas. El alitame en dosis de 500 a 1000 mg/kg/pc/día durante 7 días tuvo efectos menores en comparación con las dosis de 1000 mg/kg/pc/día; es así como el citocromo P-450 aumentó su actividad en 140% sobre los controles y la actividad de las enzimas etoxiresorufinaO-deetilasa (EROD), pentoxiresorufin-O-depentilasa (PROD) y eritromicina N-desmetilasa (ERD) aumento de 3,6 veces, 6,3 veces y 4,7 veces, respectivamente. El examen microscópico reveló hipertrofia hepatocelular en ambas dosis, inflamación periportal y necrosis en algunas secciones. Finalmente, por microscopía electrónica se observó un aumento en el retículo endoplasmático liso y rugoso.

Los resultados de Pfizer® indicaron que el peso de órganos como riñón y cerebro no se ven afectados; sin embargo, el alitame en dosis de 0,3% a 1% en el alimento actúa como inductor débil de las enzimas hepáticas en ratas; adicionalmente, en hembras se evidenció la disminución de peso corporal y un aumento de peso en el hígado directamente relacionado con la dosis administrada; este es un patrón de cambios similar aunque en menor grado al causado por el fenobarbital (22).

- **Humanos**

Se administró alitamo por vía oral en cápsulas de gelatina a 8 hombres, 4 dosis diarias de 15 mg/kg/pc/día durante 14 días. Esta dosis es 15 veces mayor al nivel previsto de exposición humana. No se presentaron efectos adversos, los parámetros estudiados fueron normales durante el transcurso del estudio.

Las muestras de orina indica la presencia de los principales metabolitos, amida-tetrametiltioetano-alanina (CP-57, 207) y el sulfóxido (CP-57, 290). El alitamo sin cambio estuvo presente sólo en pequeñas cantidades (22).

E. Estudios toxicológicos

Los estudios de toxicidad aguda y a corto plazo para alitame en animales de experimentación fueron realizados por Pfizer®, estos se muestran en las tablas 3 y 4.

Tabla 3. Estudios de toxicidad aguda de alitame en animales de experimentación.

Animales	Dosis y vía de administración	Resultados
Ratones	Sonda: Dosis única de 5000mg/kg	No se presentaron muertes, ni signos clínicos. Se detectó aumento de la materia fecal blanda 2,5 horas después de tratamiento, las heces fueron normales el día 2 post-tratamiento
Ratas	Sonda: Dosis única de 5000mg/kg	Se observó un aumento en la actividad entre 1 y 2 días, cambiando el comportamiento (nerviosismo), con tendencia a exoftalmia, especialmente las hembras. Se detectó incoordinación motora.

Fuente: monografía de la molécula de Pfizer® (22).

Tabla 4. Estudios de toxicidad aguda a corto plazo de alitame en animales de experimentación

Animales	Dosis y vía de administración	Resultados
Ratones	Dieta con alitame al 0, 1, 2 y 5%, equivalente a 0, 1500, 3000 y 7500 mg/kg por día	No se presentaron muertes ni signos clínicos de toxicidad durante el período de estudio. El tejido hepático presentó aumento dependiente de la dosis con la proliferación del retículo endoplásmico liso
Ratas	Dieta con alitame al 0, 1, 2 y 5%, equivalente a 0, 1500, 3000 o 7500 mg/kg por día	Se evidenció aumento de P-450 y B5 dosis-dependiente durante el tratamiento. El peso del hígado en machos se

		incrementó durante la ingestión de dosis altas, a diferencia de las hembras en quienes aumentó en todas las dosis; este efecto fue reversible y el peso del hígado volvió al peso anterior.
--	--	---

Fuente: monografía de la molécula de Pfizer® (22).

Los estudios de histopatología realizados en animales de experimentación después de la administración de alitame se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Estudios de histopatología en animales de experimentación

Animales	Dosis y vía de administración	Resultados
Ratas	Alitame administrado: 50, 150 y 500 mg/kg	Se presentó hipertrofia centrilobular; aumento de G-6-P deshidrogenasa, la gamma-glutamyl transpeptidasa y NADPH diaforasa. Todos los cambios fueron reversibles. Se evidenció un aumento de la proliferación del retículo endoplasmático liso en todas las dosis. No se presentó hiperplasia focal o toxicidad hepatocelular. No hubo muertes ni efectos sobre el peso del animal y patologías relacionadas con el consumo elevado de alitame. Durante el tiempo de consumo se presentaron aumento del citocromo P-450 y leve del peso del hígado.
Perros	Alitame administrado con dosis de alitame 250, 500 y 1250mg/Kg	No se encontraron muertes relacionadas con el consumo de elevado de alitame, signos clínicos de intoxicación ni efectos sobre el peso corporal. Los parámetros de química clínica fueron normales, con ligero aumento en la actividad de fosfatasa alcalina. A nivel microscópico se pudo apreciar un aumento de la vacuolización citoplasmática en el hígado de

		<p>algunos animales</p> <p>Se presentó aumento moderado en el peso absoluto del hígado del 31% y 20% en los machos y hembras, con ligero aumento en el retículo endoplasmático liso en los animales que consumieron dosis altas.</p>
--	--	--

Fuente: monografía de la molécula de Pfizer® (22).

Posteriormente Pfizer® realizó estudios de toxicidad a largo plazo incluyendo carcinogenicidad. Estos estudios se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Toxicidad a largo plazo y estudios de carcinogenicidad

Animales	Dosis y vía de administración	Resultados
Ratones	Dieta con alitame en concentraciones de 0, 0,1, 0,3 y 0,7%.	<p>El peso absoluto del hígado aumentó en un 59% y 46% en machos con consumo de dosis altas. Se encontró de leve a moderada hipertrofia hepatocelular centrolobulillar</p> <p>No se observaron cambios histopatológicos o cualquier alteración relacionada con la incidencia de tumores.</p>
Ratas	Dieta con alitame en concentraciones de 0, 0,1, 0,3 y 1%, por dos años.	<p>No se encontraron signos clínicos de toxicidad o cambios de comportamiento</p> <p>Las hembras con consumo alto obtuvieron un peso significativamente menor que las hembras control</p> <p>No hubo cambios en los parámetros hematológicos y de química clínica.</p> <p>El consumo de alitame, no mostró evidencia de carcinogenicidad en ratas</p>

Fuente: monografía de la molécula de Pfizer® (22).

F. Estudios de toxicidad reproductiva

En un estudio de toxicidad reproductiva se administró a un grupo de ratas, una dieta que contenía alitame en concentraciones de 0, 0,1, 0,3 y 1,0%, durante el periodo de apareamiento, embarazo y lactancia. No se evidenciaron efectos en los

índices de fertilidad, gestación y abortos. No hubo diferencias en el número de cachorros nacidos vivos entre los grupos tratados y controles, ni en las tasas de supervivencia de las crías e índices de lactancia. En la primera generación de crías, los pesos de estas, fueron similares a las de los animales control (22). En la segunda generación el peso corporal de los animales fue similar a la del los animales control, excepto en los animales que se les administró una dosis alta del producto, los cuales presentaron una ligera disminución en la ganancia de peso corporal.

No hubo cambios relacionados con el tratamiento y las tasas de embarazo, la duración de la gestación en camadas de primera o segunda generación. No hubo diferencias en el número de cachorros nacidos vivos entre los grupos tratados y los controles. Los Índices de supervivencia para las dos generaciones fueron normales para todos los grupos en los días 1 y 4 de lactancia. En cuanto al examen patológico de los machos y las hembras de primera generación y a los cachorros y las crías de segunda generación no reveló ninguna anomalía relacionada con el tratamiento (22).

En el grupo de los padres, los pesos corporales de los machos fueron similares para todos los grupos durante las 12 semanas de tratamiento, mientras que hubo pérdida de peso corporal y del consumo de alimentos en las hembras; las tasas de fecundidad para todos los grupos fueron normales. Las tasas de embarazo y el tiempo de gestación fueron normales, el número de cachorros vivos y el peso corporal en la primera generación fue similar para todos los grupos en el día 1, pero se redujo levemente en los animales con tratamiento con dosis altas en el día 4. El examen macroscópico patológico de los machos y de las hembras y sus crías no revelaron cambios relacionados con el tratamiento. Para el grupo de segunda generación se pudo observar que las tasas de fecundación y los tiempos de gestación, asociadas a la producción de las camadas fueron normales para todos los grupos. El número medio de cachorros nacidos vivos fue similar en el control, en el grupo con consumo de dosis alta, el número de cachorros vivos fue

ligeramente menor. La supervivencia durante la lactancia fue similar para todos los grupos. El peso corporal medio de las crías nivel fue significativamente menor que los controles en el día 14 de lactancia. El examen externo y examen interno no reveló cambios relacionados con el tratamiento. Los examen oftalmoscopio y auditivo fueron normales en todos los grupos (22).

G. Estudios especiales sobre la supervivencia neonatal

Se realizó un estudio en las crías con el fin de investigar la aparente disminución de peso durante la lactancia en un grupo de ratones con consumo alto. En este estudio las madres y las crías fueron expuestas a alitamo, agregado en la cama en vez de ser agregado en el alimento, debido a la costumbre de los animales a comer material de la cama; se observó una disminución de peso luego del destete en los animales tratados, estas diferencias fueron estadísticamente significativas. No se encontraron efectos en la actividad locomotora de los animales. De este estudio se concluyó que el alimento suministrado en la cama tuvo un efecto relacionado con el peso corporal, a pesar no haber una medición del consumo de alimento suministrado de esta forma (22).

H. Estudios especiales sobre embriotoxicidad / teratogenicidad

Se realizó un estudio en ratas preñadas a las que se les administró alitame al 0,1% en metilcelulosa a una dosis de 0, 100, y 1000mg/kg luego de la inseminación. La tasa de preñez fue igual tanto para el grupo control, como para el tratado. No hubo muertes ni signos clínicos relacionados con la ingesta del producto. El peso corporal fue significativamente menor en animales que consumieron una dosis alta de alitamo durante y después del periodo de gestación. El número de crías fue similar en todos los grupos, al igual que el número de cuerpos lúteos. En los grupos con consumo de dosis altas e intermedias se observó una disminución en el número de lugares de implantación del embrión, descensos en el número de fetos, aumento la tasa de embriotoxicidad y la proporción de sexos (M / F) se redujo (74/100) en comparación con los controles (110/110).

No hubo diferencia entre el peso fetal de control y los animales tratados y el examen de los fetos no reveló aumento relacionado con el tratamiento y la presentación de malformaciones graves, viscerales o esqueléticas. Entre todos los fetos examinados se observó únicamente una anomalía externa (paladar hendido). No hubo cambios relacionados con el tratamiento de la tasa de osificación. En las condiciones de este estudio, el alitamo no mostró evidencia de teratogenicidad en ratas.

Otros estudios realizados en conejos a los cuales se les administró por sonda dosis de 0, 100, 300 o 1000 mg/kg/pc/ día de alitamo durante los días 7-18 después de ser inseminados, hubo muerte de un animal de cada grupo (4 animales). La tasa de embarazo fue de 16/19, 15/18, 18/20 y 16/20 en cada uno de los grupos, respectivamente. Los animales que consumieron dosis altas de alitamo presentaron una disminución significativa de peso corporal. El número de crías viables y de cuerpos lúteos fue similar para todos los grupos. Hubo un aborto el día 24 en el grupo con dosis alta. Los pesos corporales de los fetos disminuyeron levemente pero no en forma significativa en los grupos con dosis alta e intermedia, No se observaron malformaciones mayores, hubo un aumento significativo en la incidencia de fetos con costillas supernumerarias en los animales con dosis altas e intermedias. En las condiciones de este ensayo, el alitamo no mostró evidencia de teratogenicidad en conejos (22). Otros estudios sobre efectos tóxicos del alitame describen en la tabla 7.

Tabla 7. Estudios especiales sobre los efectos tóxicos

Animales	Dosis y vía de administración	Resultados
Cobayos y ratas	Solución de 10^4 mol/litro de alitamo	Cobayos: No se evidenció actividad contráctil o relajante sobre el íleon Ratas: No se evidencio actividad contráctil o relajante en fondo de ojo y conducto deferente, ni actividad sobre los seis neurotransmisores

	Dosis oral de 25 mg/kg	No causó cambio en el tiempo de tránsito intestinal ni en la excreción renal de líquidos o electrolitos. Tampoco tuvo ningún efecto sobre los niveles de glucosa en sangre en ayuno.
--	------------------------	--

Fuente: monografía de la molécula de Pfizer® (22).

I. Estudios especiales sobre el efecto en neurotoxicidad y neuroconductuales

Se revisó un estudio que tenía el objetivo de determinar la capacidad del alitame para inhibir los receptores de unión *in vitro* en homogenizado de cerebro de rata y de producir algún efecto neuroquímico *in vivo*. En los ensayos *in vitro*, ni el alitame, ni el isómero-beta, en concentraciones de 10mM, tuvieron efectos sobre la unión de los ligandos. No hubo cambios significativos en los niveles de neurotransmisores después del tratamiento (22).

Se examinó el efecto del alitamo en el comportamiento de las ratas, a las cuales se les administró una dosis oral única del vehículo, alitamo (25 mg/kg/pc), β -isómero del alitamo (6,25 mg/kg de peso corporal) y alitamo (12,5 mg/kg/pc), β -isómero del alitamo (6,25 mg/kg). Posteriormente los animales fueron sacrificados y se midieron los niveles de dopamina, serotonina y sus metabolitos en tejido cerebral; se pudo establecer que no hubo cambios significativos en los niveles de neurotransmisores después del tratamiento (22).

Se examinó la posible neurotoxicidad de alitamo en ratas tras la administración aguda de este producto en una sola dosis oral de 0, 2000, 3000 y 5000 mg/kg/pc, los animales fueron sometidos a una prueba de actividad motora, y de reflejo auditivo de sobresalto antes del tratamiento. Las lesiones encontradas en el grupo de las hembras que tenían el consumo alto, fueron manchas amarillas en la piel abdominal, y a nivel urogenital, deshidratación, palidez y depresión. Para el grupo con consumo alto, se observó una disminución significativa en el reflejo auditivo de sobresalto; también se presentó una mayor incidencia en la marcha atáxica y diarrea. No se encontró relación entre el tratamiento y las patologías halladas

hasta el día 7. Cambios transitorios de comportamiento se observaron inmediatamente después del tratamiento y 24h después del mismo. Hasta el día 7, todos los animales parecían normales y no había evidencias de neurotoxicidad (22).

En un estudio de 13 semanas de duración se estudiaron en ratas macho y hembra alimentadas con una dieta que contenía alitamo en concentraciones de 0, 0,1, 0,3 y 1%, los efectos potenciales de alitamo en el comportamiento y neuromorfología. Al final del estudio, la mitad de los animales fueron perfundidos para el examen neuropatológico. Los tejidos de cerebro, médula espinal y músculo esquelético fueron preparados en cortes de parafina y hematoxilina. No hubo mortalidad ni signos clínicos adversos asociados al tratamiento. El peso corporal y el consumo de alimentos de todos los otros lotes tratados fueron normales. Tanto la evaluación cualitativa (observaciones y manipulación) como la cuantitativa (fuerza de agarre, síndrome de abducción de miembros posteriores, y temperatura corporal) no se vieron afectadas por el tratamiento en ambos sexos. No se encontraron lesiones ni signos relacionados con el tratamiento (22).

J. Estudios especiales sobre la melanina vinculante.

El potencial de alitamo y sus metabolitos radiomarcados que se unen a la melanina de los ojos en las ratas, fue probado por autorradiografía y por microhistoautorradiografía. Para este estudio se administraron a ratas machos y hembras, una dosis oral única de 65 mg/kg/pc-C¹⁴ de alitamo (94% de pureza). A las 2 y 24 horas. Al examen microscópico de las micrografías de los ojos revelan una gran cantidad de granos de plata distribuidos ampliamente a través de la capa de la retina, la coroides y la esclerótica de los animales. Los resultados de la microscopía no podía ser interpretado y los datos fueron considerados como artefactos. Los resultados de la auto-radiografía reveló niveles mucho más altos de radiactividad en el tracto uveal (coroides, cuerpo ciliar y el iris) de las ratas pigmentadas. La cuantificación de los autorradiografías revelaron concentraciones de 2,99 µg de alitamo equivalente /g de tejido en el tracto uveal de ratas albinas,

en las ratas pigmentadas, la radiactividad en el tracto uveal se 28,24/ μ g de alitamo equivalente/g de tejido. No hubo diferencia de la radioactividad en los tejidos circundantes, para la rata albina y la pigmentada.

También se probó el alitamo y sus metabolitos in vitro por su afinidad de unión a la melanina. El producto de excreción, sulfóxido-alanina-amida tetrametiltietano, encontrado en la orina de ratas y seres humanos, no se unió a la melanina en las condiciones de este ensayo, mientras que su forma acetilada, que sólo se encontró en la orina de ratas, se unió a la melanina. Este estudio proporcionó evidencia de que la melanina vinculante observada en ratas se puede asociar a un metabolito formado sólo en esta especie (22).

K. Estudios especiales sobre el compuesto β -isómero del alitame

- **Absorción, distribución, excreción y biotransformación**

En un estudio para examinar la toxicocinética de la β -isómero del alitame, se les administró a un grupo de ratas una única dosis oral de C^{14} - β -isómero del alitamo (10 mg/kg/pc en agua), y se les midió la excreción fecal y urinaria después de 72 horas. En otro estudio similar realizado con 6 machos y 3 hembras tras una única dosis oral de C^{14} isómero- β del alitamo (25 mg/kg/pc). Un grupo de ratas macho fueron equipadas con una cánula biliar. Estos animales recibieron una dosis oral de 25 mg/kg/pc C^{14} isómero- β . En cuanto a los resultados se evidenció que la excreción en las ratas hembras fue ligeramente más lenta; en los animales canulados, el 13% de la radiactividad total fue en la bilis (22).

En la tabla 8, se relaciona el estudio para identificar los metabolitos de la β -isómero del alitamo, a un grupo de ratas.

Tabla 8. Metabolitos del isómero beta del alitamo

Dosis y vía de administración	Método de análisis	Resultados
Única dosis oral de 10 mg/kg de peso corporal 14C-β-isómero del alitamo	HPLC	La Radiactividad urinaria contenía aproximadamente 1% de la radioactividad Sin modificar la β-isómero se encontró en la orina de las ratas hembras, y representa aproximadamente el 13% de la radiactividad total. Otros metabolitos que representa aproximadamente el 50% de la radiactividad fueron sulfóxido alanina amida tetrametiltietano (CP-58, 290), sulfona alanina amida tetrametiltietano (CP-57, 254) y sus derivados acetilados (CP-71, 246 y CP-58, 386)
14C-β-isómero del alitamo en una dosis oral de 25 mg/kg de peso corporal		
3 hembras y 6 machos recibieron 25mg/kg de 14C-β-isómero del alitame		

Fuente: monografía de la molécula de Pfizer® (22).

El único metabolito diferente identificado fue el derivado N-acetil del isómero beta que se formó por acetilación del grupo amino libre de la fracción de ácido aspártico. El derivado N-acetil del isómero-beta compuesto 9% y el 31% de la radiactividad en la orina de ratas machos y hembras, respectivamente. En las heces, la β-isómero representaron la mayoría (70-81%) de la radiactividad (22). En otro estudio realizado para examinar la exposición sistémica a los beta-alitame B y N-acetil-isómero, mediante un examen de los metabolitos urinarios en ratas, se les administro por vía intravenosa C¹⁴isómero-β del alitame y 14C-N-acetil-isómero β, y luego por vía oral, en dosis de 25 mg/kg/pc. La exposición sistémica a β-isómero tras la administración oral fue de 9% en machos y 10% en hembras. La exposición sistémica a β-isómero más N-acetil-β-isómero fue del 8% en machos y 18% en las hembras (22).

L. Estudios de toxicidad a corto plazo

En un estudio que duro 3 meses, se tomó un grupo de ratones, los cuales fueron alimentados con una dieta que contenía el β-isómero del alitamo (CP-63, 884) a dosis de 0, 6.3, 12.5 o 25 mg/kg/pc/día. Para este estudio se registro el consumo

de alimento, los metabolitos urinarios fueron analizados en las semanas 11 y 13. También se tuvo en cuenta los hallazgos patológicos e histológicos. Los resultados de este trabajo demuestran que no hubo efectos relacionados con el tratamiento sobre la ganancia de peso corporal, aunque, el peso en los machos alimentados con dosis altas se redujo ligeramente. Uno de los metabolitos urinarios identificado fue el derivado N-acetil del isómero. La cantidad del isómero aumentó proporcionalmente con la dosis. No hubo efectos relacionados con el tratamiento en peso de los órganos. No se encontró cambios patológicos e histopatológicos relacionados con el tratamiento (22).

En otro estudio con ratas, las cuales fueron alimentadas con una dieta que contenía el β -isómero del alitame (CP-63884) a dosis de 0, 6.3, 12,5 o 25 mg/kg/pc/día. A estos animales se les realizaron exámenes oftalmológicos, patológicos, histopatológicos, química sanguínea y análisis de orina. No se presentaron muertes y la relación peso consumo fue similar en todos los grupos; no se evidencio algún efecto relacionado con el tratamiento en la química clínica, parámetros hematológicos urinarios. No se encontraron diferencias entre el control y los tratamiento en cuanto a peso de órganos; no se encontraron alteraciones patológicas ni histopatológicas (22).

M. Estudios especiales sobre embriotoxicidad y teratogenicidad

Un grupo de 88 ratas albinas hembras fueron inseminadas y divididas en 4 grupos de 22 animales. Un grupo de ratas preñadas se les administró el β -isómero del alitame (CP-63, 884 por sonda en dosis de 0, 25, 50 y 100 mg/kg/pc/día durante los días 6-15 después de la inseminación. Luego fueron sacrificadas 20 días después de la inseminación y se les realizo un examen a los fetos. En cuanto a los resultados, no se encontraron muertes durante el estudio, ni signos clínicos de toxicidad. No hubo efectos relacionados con el tratamiento en el peso corporal o el consumo de alimentos de las hembras preñadas. El número de cuerpos lúteos, los lugares de implantación y los fetos viables fue similar en todos los grupos. Con respecto al desarrollo fetal, no hubo diferencia entre el peso fetal del control y los

animales tratados. El examen de los fetos no reveló ningún tipo de malformaciones (esqueléticas o viscerales) relacionadas con el tratamiento. En las condiciones de este estudio, el β -isómero del alitame no mostró evidencia de teratogenicidad en ratas (22).

N. Observaciones en seres humanos

En un estudio de tolerancia de 90 días tanto para hombres como para mujeres (77 tratados, 80 controles) se les administró alitame en capsula dividido entre las tres comidas con una dosis de 10 mg/kg (10 veces mayor que la ingesta diaria) de peso corporal día durante 90 días. A los sujetos se les evaluó los efectos secundarios (por entrevista y observación). Otras pruebas incluyen la presión arterial, temperatura, peso corporal, electrocardiograma, y examen oftalmológicos. También se les midieron los parámetros de patología clínica. La activación microsomal fue estimada a partir de la cinética de eliminación de aminopirina en la dosificación previa y en las semanas 6 y 13 de tratamiento. No hubo cambios relacionados con el tratamiento sobre la presión arterial, el pulso, la temperatura o el peso corporal. Los electrocardiogramas y exámenes oftalmológicos fueron normales. Los parámetros hematológicos fueron similares en los pacientes tratados y el control. La medición de las tasas de eliminación aminopirina a las 6 y 13 semanas, no mostró ningún aumento en la actividad de la enzima hepática microsomal (22).

En un trabajo realizado sobre tolerancia en pacientes diabéticos, tanto para hombres como para mujeres, con algún tipo diabetes (I o II) y a los cuales se les administraron alitame en capsula (dividido entre las tres comidas) a dosis de 10 mg de peso corporal/kg/día durante 90 días. Los sujetos fueron incluidos en los siguientes criterios: los diabéticos de tipo I y tipo II, ambos sexos y de edades comprendidas entre 15 y 70 años con y sin tratamiento, que no hayan sufrido un infarto de miocardio en los últimos 6 meses, y que tengan la presión coronaria controlada. Se excluyeron mujeres embarazadas o en lactancia, pacientes con dependencia de drogas o bebidas alcohólicas, enfermedad sistémica que no sea

la diabetes, con parámetros clínicos y hematológicos por encima del límite superior de lo normal, con enfermedades hepáticas. Al final del período se observaron efectos secundarios en el 29% de los pacientes tratados y el 25% de los sujetos de control. Los trastornos más comunes fueron gastrointestinales. No se observaron cambios significativos con respecto al control de la diabetes, química clínica y parámetros hematológicos o urinarios. No se observaron efectos relacionados con el tratamiento. De este resultado se pudo establecer que el alitamo a dosis de 10 mg/kg/día durante 90 días fue bien tolerado por los pacientes con diabetes tipo I y tipo II, el alitamo no tuvo efecto en la capacidad para controlar los niveles de glucosa en suero en pacientes diabéticos (22).

Se les realizó un estudio de seguimiento entre 1 y 2 años a los sujetos en el estudio que incluyó entrevista y examen físico completo. Los sujetos fueron entrevistados de nuevo 24 meses posteriores al estudio. Se registraron una variedad de enfermedades intercurrentes durante el período de seguimiento. La mayoría de las enfermedades registradas estaban relacionadas con la diabetes y sus complicaciones. La incidencia de las enfermedades intercurrentes durante el período de seguimiento fue de 40 tratados y 36 sujetos control. Dos sujetos murieron durante el período de seguimiento, y otro con diabetes tipo I murió durante el mes siguiente del estudio, de causa desconocida. Al finalizar el estudio no se observaron reacciones adversas. El segundo con diabétis tipo II sufrió ataque cardiaco, como resultado de la enfermedad cardiovascular aterosclerótica. En el primer seguimiento (12 meses), 5 pacientes tratados presentaron infarto de miocardio. La posibilidad de que los resultados se debieron a la casualidad fue examinada usando los datos epidemiológicos disponibles sobre la incidencia de infarto de miocardio. Los datos de los EE.UU. Encuesta Nacional de Altas Hospitalarias (NHDS) fueron utilizados para estimar la tasa de infartos de miocardio en los diabéticos en distintos grupos de edad para ambos sexos. Con base en los datos de hospitalización para los diabéticos que han sufrido infarto de miocardio en 1986, el número de personas que se espera de sufrir un infarto de miocardio en un solo año fueron de 2,9 y 3,2 en los grupos tratados y control,

respectivamente. Dos años después del estudio, los infartos de miocardio se hallaron en 6 pacientes tratados y 3 controles. El análisis estadístico de estos datos a los 2 años apoya la hipótesis de que la incidencia observada se debe al azar. Los datos indican que dos años después del estudio de 90 días en diabéticos tratados con alitame, no se presentaron pruebas de que esta sustancia afectara negativamente la salud de los grupos de estudio (22).

6. MÉTODOS DE ANÁLISIS:

Se han desarrollado diversas metodologías para el análisis de alitame en los diversos grupos de alimentos para los cuales tiene indicación de uso. La tabla 9 resume algunos de las principales técnicas utilizadas.

Tabla 9. Métodos de análisis de ciclamato

Método	Resultados	Técnica	Referencia
Determinación de alitame, en los siguientes alimentos: Refrescos con gas y sin gas, frutas enlatadas o embotelladas y yogurt.	Canned fruits: Min (13 µg g ⁻¹) Max: (27 µg g ⁻¹) Yoghurt: (13 µg g ⁻¹) Max: (25 µg g ⁻¹) Bebidas energéticas (13 µg g ⁻¹) Max: (26 µg g ⁻¹)	Cromatografía líquida con detección de dispersión de luz por evaporación (HPLC-ELSD)	(26)
Determinación de nueve edulcorantes (alitame), en alimentos MUD: Dosis Máxima usada 200mg/2ml	Bebidas de Cola 50% MUD: 91.3 (5.3) 100% MUD:90.2 (3.6) 125% MUD:94.1 (3.2) Yoghurt: 50% MUD: 91.5 (1.6) 100% MUD:92.1 (3.0) 125% MUD:88.7 (4.0) Pescado Marinado	HPLC/MS	(27)

	50% MUD: 96.3 (9.2) 100% MUD: 125% MUD: 99.3 (4.4) 103.9 (0.7)		
Determinación de edulcorantes artificiales en productos alimenticios	Revisión general de preparación de matrices que incluye los siguientes alimentos y bebidas: gaseosas, jugos o bebidas derivadas de frutas, leches fermentadas, licores, bebidas en polvo de preparación instantánea, dulces y confituras, goma de mascar, endulzantes sólidos y líquidos, mermeladas, encurtidos, frutas enlatadas, salsas deshidratadas, sopas, jaleas, productos lácteos, productos horneados y de panadería y chocolates.	Revisión de técnicas	(2)
Aspartame, sacarina,, acesulfame-K, alitame y dulcina	Licores y refrescos, mermeladas, confituras y salsa de tomate	Cromatografía con electrocinética capilar micelar	(28)
Ciclamato, aspartame, acesulfame, alitame y sacarina	Licores y refrescos, mermeladas y confituras	Electroforesis capilar con detección UV indirecta	(28)