

Hande SİPAHİ(*), Terken BAYDAR(*), Gönül ŞAHİN(*)

(*) Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, F. Toksikoloji Anabilim Dalı, ANKARA

Prof. Dr. Gönül Şahin

Doç. Dr. Terken Baydar

Araş. Gör. Hande Sipahi

Aspartamın toksikolojik açıdan değerlendirilmesi (2)

ASPARTAM KULLANIMINA BAĞLI BİLDİRİLEN YAN/ZİT ETKİLER

Aspartamın alkolsüz içeceklerde kullanılmasına izin verilmesinden sonra Amerika Birleşik Devletleri'nde tüketiciler arasında bazı şikayetlerde artış kaydedilmiştir. Bildirilen bu 231 şikayetin %67'si baş ağrısı (%45), duygusal durumda değişiklik veya depresyon (%43), uykusuzluk (%22), baş dönmesi (%21), yorgunluk (%20), görme gücünde azalma (%9), hiperaktivite (%5) gibi nörolojik/ psikolojik semptomlardır. %24'ü karın ağrısı (%46), mide bulantısı (%43), diyare (%32), kusma (%23) gibi Gİ sisteme ait rahatsızlıklardır. Bildirilen şikayetlerin %15'i allerjik semptomlardır ve bunların %30'u belirgin döküntü şeklindedir. Bazı kadınlar (%6) menstrual düzenlerindeki değişiklikleri bildirmişlerdir. Bu yakınmaların %15'inde, aspartamın yinelenen kullanımında semptomların tekrarladığı bildirilmiştir (6).

RİSK GRUPLARINDA ASPARTAM KULLANIMI

Hamilelik döneminde kullanımı: Plasenta aspartamın hidrolizi ile oluşan komponentlerinden Asp için geçirgen değildir. Metanol için yeterli bilgi olmamasına rağmen, aspartamla tatlandırılmış içeceklerle oluşacak metanolün, eşit miktarda meyva suyu ile karşılaştırıldığında çok daha az miktarda oluştuğu bilinmektedir (22). Phe plasentadan geçebilmektedir. Gebelikte aspartamla tatlandırılmış ürünlerin alınması normal yada heterozigot fenilketonürlü annelerde risk oluşturmasına rağmen fetusta birikme eğilimi olan Phe'in plazma değerlerinin yükselmesi homozigot fenilketonürlü bir annenin fetusunda toksisiteye yol açar (10, 22). Nörotoksosite için bir eşik değer olduğu ve bu toksisitenin plazma Phe değerleriyle doğrusal bir korelasyon gösterdiği kesinlik kazanmamıştır. Bu nedenle PKU'lu gebelerin de diğer fenilketonürlüler gibi Phe içeren herhangi bir diyetten kaçınmaları gerekmektedir. Aspartam minör

bir kaynak olmakla birlikte, yine de bir Phe kaynağı olduğu, PKU'lu hamilelerin diyetleri planlanırken mutlaka göz önünde tutulmalıdır. Aspartam FDA'nın teratojenik risk sınıflandırmasında 'B' kategorisinde yer alırken gebe fenilketonürlü kişiler için 'C' kategorisinde sınıflandırılmıştır (10).

Laktasyon döneminde kullanımı:

Normal laktasyon dönemindeki kadınlar tarafından günlük müsaade edilen 50 mg/kg dozunda aspartam alınımı, Asp ve Phe süt konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir yükselmeye neden olmaktadır. Aspartam alınmasından sonra 4 saatlik bir açlık döneminde süt Asp düzeylerinin 2.3 µmol/dl'den 4.8 µmol/dl'ye, süt Phe düzeylerinin ise yaklaşık 0.5 µmol/dl'den 2.3 µmol/dl'ye yükseldiği saptanmıştır. Aspartam alımının anne sütü ile beslenen bebeğin Phe düzeyleri üzerinde önemli bir etkiye yol açmayacağı bildirilmiştir (10). Bununla beraber fenilketonürlü anne veya bebekler Phe alımlarını dikkatle kontrol etmek zorunda olduklarından, "American Academy of Pediatrics", aspartamı bu popülasyonda dikkatle kullanılması gereken bir kimyasal olarak sınıflandırmaktadır (10).

Çocuklarda kullanımı: Bazal aminoasit düzeyleri çocuklarda yetişkinlere göre daha yüksek olduğundan aspartam bu grupta ayrı bir risk oluşturmaktadır. Çocukların fazla miktarlarda alkolsüz içecek, dondurma vs. tüketme eğiliminde olmaları nedeniyle yiyecek-içeceklerin aspartamla tatlandırılmış olabileceği gözardı edilmemelidir. 8-14 aylık 24 çocuğa içeceklerle farklı dozlarda aspartam verilmesinin ardından, sadece Phe konsantrasyonunda hafif bir artış saptanmıştır (6). Bu artışla, beyin hasarı riskinin mümkün olamayacağı öne sürülmüştür. Artan plazma aminoasit konsantrasyonunun klerensinin çocuklarda da yetişkinler kadar hızlı olduğu bildirilmiştir (6). Çeşitli gıda maddelerine eklenen aspartamı 13 hafta boyunca tüketen, çocuklar dahil çeşitli yaş (2-21) gruplarındaki kişiler ile sukroz kullanan kontrol grubu karşılaştırılmış serum metanol düzeyi ve

biyokimyasal parametrelerde farklılık bulunmamıştır. Genel sağlık durumunda, göz fonksiyonlarında, akne oluşumunda veya serum Phe ve Tyr konsantrasyonlarında aspartam veya sukroz kullanan yaş grupları arasında farklılık görülmemiştir. Katılımcıların bildirdiği şikayetlerin ise spesifik olmadığı saptanmıştır (6). Yaşları 13-19 arasında değişen, 212 kişilik tüketici grubu üzerinde yapılan bir araştırmada, tüketilen şekerli ürünler saptanmış ve bu ürünlerin içerdiği tatlandırıcıların ADI değerini aşma olasılığı değerlendirilmiştir (36). Bu gençlerde tatlandırıcıların az tüketildiği ve ADI değerini aşma riskinin düşük olduğu bildirilmiştir. Bu durum ise tatlandırıcı katılmış ürünlerin tüketilme olasılığının az oluşu veya bu ürünlere talebin düzensiz oluşundan kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır. Ancak tatlandırıcıların kullanımının artması, kalorisiz veya kalorisiz şeker içeren ürünlere talebin artması durumunda değerlendirilmelerin tekrar yapılması gereklidir (36). Fransa'da yapılan bir araştırmada, genel popülasyonda aspartam tüketimi ortalama 69.4 mg/gün olduğu, cinsiyetler arası farklılıklar incelendiğinde ise 15 yaş ve üzeri kız çocuklarında tüketimin erkeklere oranla daha fazla olduğu bildirilmiştir (37). İnsülin kullanan diyabetli çocuklarda aspartam, sakarin ve asesülfam-K'nın teorik maksimum günlük alımları ve ADI limitleri karşılaştırılmış, tüketimin % 97.5'ini oluşturan 5 farklı yaş grubunda aspartam maruziyetinin ADI değerlerini aşmadığı saptanmıştır (38).

Yaşlı grupta kullanımı: Yaşlı grupta aspartam metabolizması ile ilgili spesifik bir araştırma yapılmamıştır. Ancak az sayıda genç ve yaşlı bireylerde tek doz 40 mg/kg aspartam alımının ardından, yaşlı grupta plazma Phe konsantrasyon düzeyinin yükseldiği saptanmıştır. Yüksek konsantrasyonlarda dağılım hacmi azalmıştır. Dağılımdan çok klerens miktarının etkilenmesine rağmen, eliminasyon yarılanma ömründe belirgin bir yükselme olmamıştır. Bu nedenle yaşlı grupta ADI değerini değiştirmeye gerek görülmemiştir (39).

Fenilketonürlilerde kullanımı: Aspartamın plazma Phe konsantrasyonunu oldukça arttırarak beyin fonksiyonlarını değiştirdiği ve fenilketonüri hastalarında zıt etkilere neden olacağı bildirilmektedir. Nadir görülen ve genetik bir hastalık olan, mental gerilik veya çeşitli derecelerde kavrama gücünün ile karakterize homozigot fenilketonüride kan Phe konsantrasyonunun hastalarda önemli ölçüde artışı önlemek için Phe içeriği kesinlikle kısıtlanmış özel diyetlerin uygulanması gerekmektedir.

Heterozigot fenilketonüri hastalarında ise diyet kısıtlamasına gerek yoktur (40, 41).

Parkinson hastalığı olanlarda kullanımı: Parkinson tedavisinde kullanılan ve plazma aminoasit düzeyindeki dalgalanmalara hassas olan levodopa tedavisine aspartamın etkisinin olmadığı gösterilmiştir. 12 hafta boyunca yüksek dozda aspartam uygulanması sonrasında, kavrama fonksiyonları veya elektroensefalografi (EEG) sonuçları plasebo ile karşılaştırıldığında fark görülmemiştir (1).

Diyabetli hastalarda kullanımı: Şeker alımlarını kontrol etmek zorunda olan diyabetik hastalar glukoz ve sukroza alternatif olarak düşük kalorili şekerleri kullanmakta ve uzun süre kullanımla bu tatlandırıcıları yüksek miktarda tüketmektedirler (37). Aminoasitler prolaktin, kortizol veya büyüme hormonu gibi hormonların salınımını etkilediğinden, yüksek dozda aspartamın hormon salınımına etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Akut doz aspartam çalışmalarında Tip-2 Diyabetes Mellitus (DM) hastalığı olan bireylere verilen aspartamın plazma glukoz veya serum insülin konsantrasyonlarını etkilemediği gösterilmiştir. Akut ve kronik aspartam kullanımının özellikle plazma glukoz ve insülin konsantrasyonlarına potansiyel etkileri değerlendirilmiştir. 3 gün boyunca sukroz yerine aspartam verildiğinde de açlık plazma glukoz konsantrasyonlarının etkilenmediği saptanmıştır. Aspartamın sefalik-faz insülini indükleyebileceği bildirilmiştir (1). Sağlıklı ve diyabetik bireylerde aspartam veya sakkarinin insülin, glukagon ve kan glukoz değerlerini değiştirmediği saptanmıştır (42). Malaisse ve ark., sıçan Langerhans adacıklarından insülin salınımına suni tatlandırıcıların etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada, aspartamın insülin sekresyonunda önemli bir değişiklik oluşturmadığını göstermişlerdir (43). Aspartam ve sukroz ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda plazma glukoz ve insülin değerleri, maltodekstrin ve aspartam kombinasyonuna göre sukroz için önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur (44). 13 hafta boyunca Tip-2 diyabetiklere kapsül formunda 1800 mg/gün aspartam uygulanmasının açlık kan glukoz konsantrasyonlarına veya diğer klinik laboratuvar parametrelerine etkisinin olmadığı saptanmıştır. Göz fonksiyonlarına herhangi bir olumsuz etki ve elektrokardiyogramda bir değişiklik bulunmamıştır. 18 hafta boyunca %100 aspartamla tatlandırılmış yaklaşık 5-6 L içeceklerine eşit miktarda aspartam verilen Tip-1 ve Tip-2 DM'li bireylerde açlık veya glikolize hemoglobin konsantrasyonları arasında

fark olmadığı saptanmıştır (1). Aspartamın kan glukoz konsantrasyonlarına etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada, 10 kişilik grubun 4'ünde kan glukozunda azalma, 2'sinde artma olduğu ve 4'ünde değişme olmadığı görülmüştür. Bu çalışmadaki denek sayısının azlığı sonuçların yorumlanmasını ve kan glukoz düzeyi ile aspartam kullanımı arasındaki ilişki hakkında kesin kaniya varılmasını güçleştirmektedir (1).

Epilepsi hastalarında kullanımı:

Aspartamın tutarık veya EEG üzerine etkilerinin değerlendirilmesi için çeşitli çalışmalar yapılmış, Phe ve aspartamın sıçan ve farelerde sese bağlı olarak meydana gelen tutarıklara, elektroşok ve kimyasal olarak indüklenen tutarıklara ve kindling'e etkileri araştırılmıştır. İnsan çalışmalarında, tutarıklarının kullandıkları aspartamdan kaynaklandığını düşünen bireyler ve nöbet geçiren çocuk hastalar değerlendirilmiştir (1). Tutarıklarının aspartam tüketiminden kaynaklandığını düşünen 18 bireyin EEG'leri 5 gün boyunca sürekli görüntülenmiştir. Aspartam alan bireylerde ortalama plazma Phe konsantrasyonu kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmasına rağmen aspartam alımı ile klinik tutarıklar ve diğer zıt etkiler ilişkilendirilmemiştir (45). Aspartam tüketiminin beyinde Phe düzeyini arttırmasına bağlı olarak katekolaminlerin veya serotonin sentezlerini etkileyebileceği ve kimyasal maddelerle indüklenen tutarıklara neden olabileceğini bildirmiştir (9). Ancak bu bulgular birçok araştırma sonucu ile de uyumlu değildir. Aspartam verilen yenidoğan maymunlarda, uygulamadan 218 gün sonra epileptik tutarıklar bildirilmiştir. Benzer bir çalışmada ise böyle bir etki gözlemlenmemiş, bulunan farklı sonuçların uygulanan standartlardaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmüştür (46). Yapılan bu çalışmaların sonucunda ortalama günlük aspartam alımının 10 katından yüksek dozlarda aspartamın EEG'ye etkisinin olmadığı, nöbet hassasiyetini etkilemediği ve prokonvülsan olmadığı bildirilmiştir (1).

Karaciğer hastalığı olanlarda kullanımı:

Phe'in hepatik ensefalopatiye aracılık ettiği veya hastalığı şiddetlendirdiği düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada 15 mg/kg tek doz aspartam alan grubun klinik ve biyokimyasal değişiklikleri, Phe içeriği aspartama eşit miktarda olan süt alan grup ile karşılaştırılmış ve kronik alkolik karaciğer hasarı olan hastalarda randomize çalışmalar yapılmıştır. Aspartam alan bireylerde plazma Phe düzeyleri süt ve kontrol gruplarına oranla daha fazla arttırmıştır.

Plazma Asp, metanol, formik asit ve amonyak düzeyleri tüm gruplarda değişmemiştir. Ensefalopatik göstergelerdeki klinik düzensizliklerin, karaciğerde metanol akümüülasyonunun veya biyokimyasal değişikliklerin olmadığı durumlarda yüksek tek doz aspartamın kronik kalıcı karaciğer hasarı olan hastalarda güvenle kullanılabileceği bildirilmiştir (47). Akut doz çalışmalarında 200 mg/kg aspartamın karaciğer fonksiyon bozukluğuna neden olduğu bildirilmiş, serum aspartat aminotransferaz (APT) ve alanin aminotransferaz (ALT) seviyelerinde yükselme belirlenmiştir. Sonuç olarak aspartamın sadece çok yüksek oral dozları, özellikle çocuklar tarafından tüketildiğinde karaciğer ve beyin fonksiyon bozuklukları gibi toksik etkilerle sonuçlanabileceği bildirilmiştir (1).

Sonuç: Aspartamın tatlandırıcı olarak onay almasının ardından 20 yıldan fazla süre geçmiştir. Güvenilirliği çok sayıda metabolizma ve tolerans çalışmalarıyla, sağlıklı yenidoğanları, çocukları, adolesan ve yetişkinleri de kapsayan alt popülasyonlarda, obez bireylerde, diyabetiklerde, laktasyonda ve esansiyel aminoasit olan Phe'i az metabolize edebilen heterozigot fenilketonürlü bireylerde doğrulanmıştır. Bununla birlikte, baş ağrısı, tutarık, allerjik tipte reaksiyonlar görülmesi ve davranış, kavrama ve duygusal durumda değişiklikler ile aspartam kullanımı arasındaki olası ilişkinin değerlendirilmesini kapsayan araştırmalar, kullanımının onaylanmasından sonra da devam etmiştir. Aspartamın güvenilirliğini destekleyen bu kapsamlı veriler düzenleyici kuruluşlarca değerlendirilmiş, aspartam metabolitlerinin zıt etkilere neden olabilecek plazma konsantrasyonlarına ulaşabilmeleri için, alınması gereken aspartam miktarının günlük tüketilmesinin mümkün olmadığı kanıtlanmıştır. Pazarlama öncesi ve sonrası değerlendirmeleri de kapsayan aspartamla ilgili tüm araştırmalar, aspartamın ADI dozlarında güvenli olduğunu göstermektedir (1).

Öneriler: İlaç dahil her kimyasal madde toksik etki potansiyeline sahiptir. Toksikiteyi belirleyen en önemli faktör dozdur. Aspartam için de bu kural geçerlidir. Aspartam için bildirilen günlük müsaade edilen doz sağlıklı bir yetişkin için 50 mg/kg'dır. Bu dozun aşılmasına özen ve dikkat gösterilmelidir. Aspartam tatlandırıcı olarak sadece çay yada kahvede kullanılmayıp, limonata veya diğer alkolsüz içeceklerle de katıldığından toplam alınan doza dikkat edilmelidir. Aspartam ile tatlandırılan ürünlerin etiketlerine, o ürünün içindeki total aspartam miktarı mutlaka ve

okunur biçimde yazılmalıdır. Aspartam içeren gıdaların etiketlerine, fenilketonürlü bireyler için mutlaka uyarı yazılmalıdır. Gebelerde, çocuklarda, yaşlılarda ve emzirme dönemindeki kadınlarda kullanımı asla suistimal edilmemelidir. Özellikle suni tatlandırıcı kullanım zorunluluğu olan bireyler başta olmak üzere, bütün tüketiciler günlük müsaade edilen dozdan fazla aspartam tüketiminin, tüm kimyasal maddelerde olduğu gibi, istenmeyen sonuçlar doğurabileceği konusunda bilinçlendirilmelidir.

Prof. Dr. Gönül ŞAHİN
Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi -
Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, ANKARA
Tel: 0 (312) 305 21 78 Faks: 0 (312) 311 47 77
E-mail: gsahin@hacettepe.edu.tr

Özür dileriz.

36. sayımızda yer alan Meslek İçi Eğitim sayfalarımızda yayınlanan "Aspartamın toksikolojik açıdan değerlendirilmesi" konulu araştırmada Araş. Gör. Hande Sipahi'nin ismi teknik bir nedenden dolayı yer almamıştır. Düzeltir, özür dileriz.

KAYNAKLAR:

- 1- Butchko HH, Stargel WW, Comer CP, Mayhew DA, Benninger C, Blackburn GL, et al. Aspartame: Review of safety. Regul Toxicol Pharmacol 35(2 Pt 2): S1-93; 2002.
- 2- Butchko HH, Stargel WW. Aspartame: Scientific evaluation in the postmarketing period. Regul Toxicol Pharmacol 34(3): 221-33; 2001.
- 3- Budavari S, O'Neil MJ, Smith A. The Merck Index. 11th edition. U.S.A.: Merck&Co, Inc. 1989; 132.
- 4- Conning DM. Toxicology of food and food additives. In: Ballantyne B, Mars TC, Syversen T, eds. General and Applied Toxicology. 2th ed. Vol 3. New York:Grove's dictionaries Inc.1999;1977-92.
- 5- Potenza DP, El-Mallakh RE. Aspartame: Clinical update. Conn Med 53(7): 395-400; 1989.
- 6- Kleinjans JCS. Food toxicity: the toxicological history of aspartame. In: Niesink RJM, Vries J, Hollinger MA, eds. Toxicology Principles and Applications. New York: CRC Press, Inc. 1996; 1055-80.
- 7- Homler BE. Properties and stability of aspartame. Food technology 38: 50-5; 1984.
- 8- Baydar T, Şahin G. Aspartam metabolizması ve toksisitesi. T Klin J Med Sci 17(3):141-52; 1997.
- 9- <http://www.afssa.fr> Assesment report: Opinion on a possible link between exposition

to aspartame and the incidence of brain tumors in humans. Report in French. AFSSA 2002.

10- Briggs GG, Freeman RK, Yaffe SJ. Fetal ve Neonatal Risk Yönünden Referans Rehberi. Gebelikte ve Laktasyon Döneminde İlaç Kullanımı (Drugs in Pregnancy and Lactation). 5th ed. Çeviri: Dr. Barış Örnek Büğü. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. 2001; 68-73.

11- Lipton WE, Li Y, Younoszai MK, Stegink LD. İntestinal absorption of aspartame decomposition products in adult rats. Metabolism 40(12): 1337-45; 1991.

12- Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Resmi Gazete. S:23/72; 2,6,7,9,41,46, 47; 16 Kasım 1997.

13- Quinlan M, Mialon V, Everitt M. Effect of storage on the flavours of cola drinks sweetened with different sweetener system. World Rev Nutr Diet 85: 58-63; 1999.

14- Neopterins in clinical medicine. Lancet 5;1 (8584); 509-11; 1988.

15- Janssen PJCM, Heijden CA. Aspartame: Review of recent experimental and observational data. Toxicology 50: 1-26; 1988.

16- Harper AE. Phenylalanine metabolism. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. Aspartame-Physiology and Biochemistry. New York: Marcel Dekker Inc. 1984; 77-109.

17- Kaufman S. Differential diagnosis of variant forms of hyperphenylalaninemia. Pediatrics. 65(4):840-1; 1980.

18- La Buda CJ, Hale RL. Anxiety in mice following acute aspartame and ethanol exposure. Alcohol. 20(1):69-74; 2000.

19- Stegink LD, Brummel MC, Mc Martin K, Martin-Amat G, Filer LJ, Baker GL, et al. Blood methanol concentrations in normal adult subjects administered abuse doses of aspartame. J Toxicol Environ Health 7: 281-90; 1981.

20- Nguyen UN, Dumoulin G, Henriët M, Regnard J. Aspartame ingestion increases urinary calcium, but not oxalate excretion, in healthy subjects. J Clin Endocrinol Metab 83(1): 165-8; 1998.

21- Leon AS. Comment on effect of large doses of aspartame on urinary calcium excretion. J Clin Endocrinol Metab 84(1): 383-4; 1999.

22- Pitkin RM. Aspartame ingestion during pregnancy. In: Stegink LD, Filer LJ, eds. Aspartame physiology and biochemistry. New York: Marcel Dekker Inc. 1984; 555-64.

23- Koeppel RA, Shulkin BL, Rosenspire KC, Shaw LA, Betz AL, Mangner T, et al. Effects of aspartame-derived phenylalanine on neutral

amino acid uptake in human brain: A positron emission tomography study. *J Neurochemistry* 56(5): 1526-35; 1991.

24- Beck B, Burlet A, Max JP, Stricker-Krongrad A. Effects of long-term ingestion of aspartame on hypothalamic neuropeptide Y, plasma leptin and body weight gain and composition. *Physiol Behav* 1-15; 75(1-2): 41-7; 2002.

25- Spiers PA, Sabounjian L, Reiner A, Myers DK, Wurtman J, Schomer DL. Aspartame: neuropsychologic and neurophysiologic evaluation of acute and chronic effects. *Am J Clin Nutr* 68(3): 531-7; 1998.

26- Goerss AL, Wagner GC, Hill WL. Acute effects of aspartame on aggression and neurochemistry of rats. *Life Sci* 67(11): 1325-9; 2000.

27- Millichap JG, Yee MM. The diet factor in pediatric and adolescent migraine. *Pediatr Neurol* 28(1): 9-15; 2003.

28- Schwartz GR. Aspartame and breast and other cancers. *West J Med* 171(5-6): 300-1; 1999.

29- Trocho C, Pardo R, Rafecas I, Virgili J, Ramesar X, Fernandez-Lopez JA, et al. Formaldehyde derived from dietary aspartame binds to tissue components in vivo. *Life Sci* 63(5): 337-49; 1998.

30- Tephly TR. Comments on the purported generation of formaldehyde and adduct formation from the sweetener aspartame. *Life Sci* 65(13): 157-60; 1999.

31- Oyama Y, Sakai H, Arata T, Okano Y, Akaike N, Sakai K, et al. Cytotoxic effects of metanol, formaldehyde, and formate on dissociated rat thymocytes: A possibility of aspartame toxicity. *Cell Biol Toxicol* 18(1): 43-50; 2002.

32- Karikas GA, Schulpis KH, Reclus G, Kokotos G. Measurement of molecular interaction of aspartame and its metabolites with DNA. *Clin Biochem* 31(5): 405-7; 1998.

33- Jeffrey AM, Williams GM. Lack of DNA-damaging activity of five non-nutritive sweeteners in rat hepatocyte/DNA repair assay. *Food Chem Toxicol* 38(4): 335-8; 2000.

34- Belogolovskaya EG, Oreshchenko AV, Durnev AD, Seredenin SB, Litvinova EV, Zubitsov YN. Effects of beta-carotene and aspartame on clastogenic activity of cyclophosphamide and dioxidine in mice. *Bull Exp Biol Med* 130(11):1102-5; 2000.

35- Mukhopadhyay M, Mukherjee A, Chakrabarti J. In vivo cytogenetic studies on blends of aspartame and acesulfame-K. *Food Chem Toxicol* 38(1): 75-7; 2000.

36- Leclercq C, Berardi D, Sorbillo MR,

Lambe J. Intake of saccharin, aspartame, acesulfame-K and cyclamate in Italian teenagers: present levels and projections. *Food Addit Contam* 16(3): 99-109; 1999.

37- Verger P, Garnier-Sagne I, Leblanc JC. Identification of risk groups for intake of food chemicals. *Regul Toxicol Pharmacol* 30: 103-8; 1999.

38- Garnier-Sagne I, Leblanc JC, Verger P. Calculation of the intake of three intense sweeteners in young insulin-dependent diabetics. *Food Chem Toxicol* 39(7): 745-7; 2001.

39- Puthrasingam S, Heybroek WM, Johnston A, Maskrey V, Swift CG, Turner P, et al. Aspartame pharmacokinetics-the effect of ageing. *Age Ageing* 25(3): 217-20; 1996.

40- da Silva LC, Carvalho TS, da Silva FB, Pires RF, Giugliani R, Pereira ML. Aspartame loading test in PKU heterozygous individuals bearing severe and moderate mutations. *Clin Genet* 58(1): 86-88; 2000.

41- Stegink LD, Filer LJ, Bell EF, Ziegler EE, Tephly TR, Krause WL. Repeated ingestion of aspartame-sweetened beverages: Further observation in individuals heterozygous for phenylketonuria. *Metabolism* 39(10): 1076-81; 1990.

42- Filer LJ, Stegink LD. Aspartame metabolism in normal adults, phenylketonuric heterozygotes, and diabetic subjects. *Diabetes Care* 12(1): 67-74; 1989.

43- Malaisse WJ, Vanonderbergen A, Louchami K, Jijakli H, Malaisse-Lagae F. Effects of artificial sweeteners on insulin release and cationic fluxes in rat pancreatic islets. *Cell Signal* 10(10): 727-33; 1998.

44- Prat-Larquemin L, Oppert JM, Bellisle F, Guy-Grand B. Sweet taste of aspartame and sucrose: effects on diet-induced thermogenesis. *Appetite* 34(3): 245-51; 2000.

45- Rowan AJ, Shaywitz BA, Tuchman L, French JA, Luciano D, Sullivan CM. Aspartame and seizure susceptibility: results of a clinical study in reportedly sensitive individuals. *Epilepsia* 36(3): 270-5; 1995.

46- http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out155_en.pdf Opinion of the SCF: Update of safety of aspartame. European Commission; 2002.

47- Hertelendy ZI, Mendenhall CL, Rouster SD, Marshall L, Weesner R. Biochemical and clinical effects of aspartame in patients with chronic, stable alcoholic liver disease. *Am J Gastroenterology* 88(5): 737-43; 1993.