



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**EFFECTO DE LA INGESTIÓN CRÓNICA DE
EDULCORANTES NATURALES Y
ARTIFICIALES EN UN MODELO ANIMAL EN
LA GANANCIA DE MASA CORPORAL A LO
LARGO DE 270 DÍAS**

TESIS MANCOMUNADA

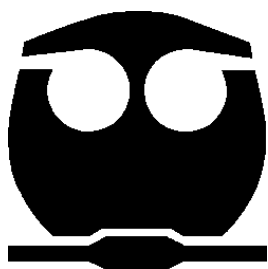
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICAS DE ALIMENTOS**

PRESENTAN:

MAURICIA BETZABETH GUZMÁN GÓMEZ

Y

DIANA JIMÉNEZ PINEDA



MÉXICO, D. F.
2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente	Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa
Vocal	M en C. Lucía Cornejo Barrera
Secretario	Dra. Liliana Rocío González Osnaya
Primer suplente	I. A. Federico Nieto Pineda
Segundo suplente	M en C. Rolando Salvador García Gómez

Sitio en donde se desarrolló el tema:

- LABORATORIOS E-301, E-302, E-303, CONJUNTO E DE LA FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM
- UNIDAD DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL (UNEXA), CONJUNTO E DE LA FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM
- LABORATORIO DE FISIOLOGÍA DE LA NUTRICIÓN DEL INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN “SALVADOR ZUBIRÁN”
- DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNAM

Asesor del Tema

Dra.- Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

Supervisor Técnico

M. en C. Rolando Salvador García Gómez

Sustentantes:

MAURICIA BETZABEH GUZMÁN GÓMEZ

DIANA JIMÉNEZ PINEDA

RECONOCIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento de esta investigación a través del Proyecto Clave 82788 “Impacto de los edulcorantes naturales y artificiales en un modelo animal en el desarrollo de la obesidad y sus implicaciones metabólicas”

Al Dr. Mauricio Hernández, entonces Subsecretario de Prevención y Promoción de la Salud, de la Secretaría de Salud y del Instituto Nacional de Salud Pública, por escucharnos.

Al Dr. Rodolfo Tuirán, Subsecretario de Educación Superior de la Secretaría de Educación Pública, no solamente por escucharnos sino por ponernos en contacto con el Dr. Mauricio Hernández.

Al personal de la Unidad de Experimentación Animal (Unexa) del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM, especialmente:

A la M. en C. Isabel Gracia Mora por la asesoría brindada durante todo el proyecto y por los acertados comentarios recibidos

A la MVZ Lucía Macías Rosales ya que sin su apoyo y su asesoría en el manejo de los animales, trato humanitario, eutanasia y extracción de tejidos este trabajo no hubiera sido posible

Al personal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, especialmente:
Al M. en C. Gerardo Salas Garrido, Patólogo del Departamento de Patología de la FMVZ de la UNAM, por su valioso apoyo académico en la disección de los órganos extraídos de los especímenes bajo estudio.

Al INCM y NSZ donde se realizaron varias de las fases experimentales. Se agradece al personal de apoyo del Depto. de Fisiología de la Nutrición, del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, en especial a quienes dependen de la Dra. Nimbe Torres y del Dr. Armando Tovar. Un reconocimiento muy particular es para el QFB Guillermo Ordaz y para el QFB Iván Torre, por su dedicación y enorme compromiso con este proyecto que demanda ética y, sobre todo, responsabilidad social.

Por el financiamiento parcial para la adquisición de materiales y reactivos del proyecto PAPIME “Apoyo a la enseñanza experimental de las asignaturas terminales de las carreras que se imparten en la Facultad de Química de la UNAM. Clave: PE101709, en el primero y único año que se apoyó

Mau y Diana

A esos pequeños seres

Aquí y allá aprendemos cautamente
en el río / en la noche / en la fatiga
a vivir glorias o a morir de pena
en el rumbo mejor o a la deriva

no está mal ser humilde por las dudas
y dejar el fulgor para otro día
(en un comienzo el corazón callaba
sólo después supimos que latía)

aprender es un rito una costumbre
no le hace mal a nadie ni se olvida
aprende quien asciende hasta la cresta
pero también quien busca entre las ruinas

aprender es abrirse a los afanes
y ¿por qué no? también a la utopía
la enseñanza es enjambre y sus gaviotas
se posan en el alma sorprendida

sabemos que aprender tiene su riesgo
y puede convertirnos en ceniza
pero no importa / hay que aventurarse
aunque eso no les guste a los de arriba

hay que saber del tiempo / hora por hora
porque vivir no es una lotería
dame esa mano que me enseña siempre
y vayámonos juntos por la vida

MARIO BENEDETTI



DIANA.

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño.

A ti Dios por haberme permitido llegar a este punto y haberme dado fortaleza, salud y entendimiento y por regalarme una hermosa familia.

A mi mamá Rosa Pineda por esa motivación constante para continuar y no morir en el intento, y ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por sus desvelos, y por creer en mí se lo agradezco de todo corazón.

A mi papá Rubén Jiménez por apoyar a mi mamá para que yo llegara a este momento y estar conmigo incondicionalmente a través del tiempo.

A Alex por estar siempre a mi lado brindándome todo tu amor y sobre todo tenerme paciencia y comprensión durante estos años, quien ha sido una pieza clave en mi desarrollo profesional. Mil gracias porque siempre estás a mi lado sin condiciones y ser una de mis inspiraciones en la vida.

A mi grande amor Ashly por dejarte por mucho tiempo para lograr mis objetivos, espero y esto en un futuro sea de ejemplo para tu vida gracias por ser la muñeca más linda y la que me inspira a seguir adelante te amo.

A mis hermanos: Rubén, José, Gloria, Emanuel, Magda, Fátima por ser ejemplo de hermanos mayores y de los cuales aprendí aciertos de momentos difíciles y a ti Raúl mi hermano menor que sigas nuestro ejemplo como hasta ahora gracias a ustedes ya que directa o indirectamente estuvieron ahí.

A mis amigos que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora seguimos siendo amigos: Nancy Jiménez (prima), Yazmín Tapia, Nalle Montiel, Emilio García, Edgar Doroteo, David Vargas además de echarme porras gracias amiguis por compartir buenos y malos momentos jamás los olvidaré.

A Mauricia Betzabeth quien es otra de las piezas fundamentales en la elaboración de esta tesis, mi compañera de tesis. Gracias por este arduo camino que tomamos juntas y por pasar lo mejor y lo peor de todo esto. Gracias por lo vivido, fue un placer.

A la Dra Carmen Durán y M.C. Rolando García gracias por sus asesorías y consejos brindados para la elaboración de esta tesis, así como de su valioso tiempo y dedicación.

A mis Sinodales, gracias por darme la oportunidad de obtener sus valiosas aportaciones a este libro y por el tiempo que me han dado para leerlo y enriquecerlo.

MAU.

Con especial dedicación

A Dios.

Por haberme permitido concluir con esta hermosa etapa de mi vida, por su infinita bondad, la fortaleza, salud, amor y sobre todo por haberme dado una hermosa familia, así como la vida día a día para seguir adelante llenándome de bendiciones.

A mi Mami

El ser más importante de mi vida, la cual me ha enseñado durante toda ella, el seguir adelante, sobrepasando los obstáculos que se presentan, gracias por estar siempre ahí, por tenerme confianza y fe, por todo, todo lo que eres, pero sobre todo lo que has hecho de mí, por todos los exquisitos momentos que me has dado mami TE AMO y esto es por ti, para ti y gracias a ti.

A mi Papi

Para mi papi Ricardo, por cuidarme, protegerme y consentirme, siempre pensando en mí, tu hija la más chiquita, por siempre tener un "Sí hija", por querer ser parte de todos los planes que tenemos y cómplice de muchos más, así como una que otra loquera TE AMO.

A mi abue Luchita

Gracias por cuidarme por fórjame con carácter por tener convicción de hacer bien las cosas, sin doblarse en el camino, por cuidar de mí todos estos años, de no ser una opción sino una decisión, por dejarme compartir tanto contigo y con mi papá esas tardes de TV, botanas y trabajo TE AMO mi luchita

Rodrigo

Por ser mi papi #2, por nunca dejarme llorar por estar ahí cuando más lo he necesitado, por cuidarme, por pensar siempre en mí, por apoyar todas y cada una de mis locuras, sobre todo permitirme estar ahí en los momentos más difíciles, sabe lo amo demasiado

Mis osos

Por ser esa loca y hermosa familia que me acompaña en este camino. Adris, aunque dudabas, me echabas muchas porras y ve, por fin lo logramos por esas noches de risas, de pláticas y de todo lo que nos falta. Riquis jajajaja viejito enojón gracias por cuidarme mucho, todos estos años y los que faltan. Chucho por ser esa persona irreverente en mi vida, por ser parte de muchos lindos momentos. En especial a la loca, esa personita mi pequeña hermana que, aunque en muchos momentos no estemos de acuerdo, muchos más son aquellos que vivimos y hemos compartido; gracias porque al

verte, me enseñas que a pesar del tiempo las cosas las he hecho bien. Como dices, eres como yo, gracias por hacerme cómplice de muchas de tus cosas, Danny te amo y los amo mucho mis osos.

Mi familia

Gracias a todos por el apoyo, el amor, la dedicación y sobretodo la unión (muérganos), sin todos ustedes no lo hubiera podido lograr, sin las palabras de Calito, los abrazos y besos de Enri, los abrazotes de Pelón, el apoyo incondicional de Cheli, gracias por estar siempre ahí. A todos mis tíos, mis primos (Eve, Brayan, Canek, Kitzia, Axel, Martha, Mary) y mis sobrinas (Isis y Osiris)

Dra. Carmen Durán

Por haberme brindado la oportunidad y la confianza de concluir este sueño de vida mediante este maravilloso proyecto, con el cual aprendí muchas cosas, conocí e hice amigos en muchos lugares y conocí muchos más, gracias por haberme abierto las puertas del laboratorio de PIQAYQA

M.C. Rolando

Profe, gracias por haber estado siempre al pendiente, por ser una guía durante todo este proceso y un gran apoyo, gracias por tomar en cuenta muchas de nuestras opiniones para que este proyecto fuera mucho mejor

Caro

A tí amiga gracias por haber compartido y ser parte de toda esta etapa, de este sueño, de aquellas largas pláticas, las comidas, pero sobre todo por ese apoyo incondicional que siempre me has tenido, el haber sido parte de muchas loqueras, de escuchar todos aquellos momentos y vamos por más ñoñis gracias

Ricardo

Aquella chispa que llegó y decidió permanecer en mi vida, gracias por, como siempre lo has dicho, estar al pendiente de esta latosa, por cuidar de mí en muchas ocasiones, por brindarme esa hermosa amistad, por estar en aquellos momentos difíciles, pero ser parte de muchos más llenos de alegría como este, querido inge, gracias por todo esto y mucho más

A mis amigas

Maga, Diana, Elsa, gracias nenas porque sin ustedes esta parte del camino no hubiera sido igual, por ser parte de todos los sentimientos que tenía, escuchar, ayudar y permanecer junto conmigo

A mis amigos

A todos aquellos que han permanecido durante todo este proceso, pero sobre todo a los que por alguna razón no puedes ya estar, gracias Rafa, Israel, Miguel, Marisol, Claus, Nancy, Maru, Mari, Chucho, Karla, Paquito, Getse, Olga, Paty, Tania, Javier, Sandra †, mi queridísima Lore †, Ricardo, Andres, Alfonso, Lilia, Paul.

Diana Jiménez

Gracias ñoñis por haber estado y ser parte de este proyecto, el cual nos llevará a cerrar ese maravilloso ciclo de vida e iniciar uno mucho mejor con una herramienta más, gracias por haberme permitido ser cómplice de somos 3 y como decíamos, de haber aguantado vara, claro fue todo un placer.

Lab PIQAYQA

Gracias a todos los que son parte de él, por el apoyo brindado, pero en especial a doña Irene por tantos consejos y toda su ayuda, doña Oti quien siempre nos recibió con un cordial saludo, pero en especial al queridísimo Benja por todo el apoyo, la ayuda y el hacer la estancia mucho más divertida.

Universidad Nacional Autónoma de México

Mi mayor agradecimiento a esta hermosa institución por haberme abierto sus puertas, por enseñarme, educarme y darme no sólo una educación académica sino una de vida, ya que gracias a ella seré una profesionista pero igual hice muchas y muy valiosas amistades, donde viví y compartí muchos momentos, sin dejar atrás lo siguiente

iGoya! iGoya!

iCachun, cachun, ra, ra!

iCachun, cachun, ra, ra!

iGoya!

iUNIVERSIDAD!

ÍNDICE

	Página
GLOSARIO	1
RESUMEN	12
CAPÍTULO 1. PROBLEMÁTICA	14
1.1. Introducción	14
1.2. Hipótesis	15
1.3. Objetivos	15
1.3.1. Objetivo general	15
1.3.2. Objetivos particulares	16
CAPÍTULO 2 FUNDAMENTOS	17
2.1. Obesidad y sobrepeso: Daños a la salud	17
2.1.1. El sobrepeso y la obesidad en México	22
2.1.2. Definición de la diabetes	22
2.1.2.1 Diabetes tipo 1	22
2.1.2.2 Diabetes tipo 2	23
2.1.2.3 La diabetes gestacional	23
2.1.3. Insulina	23
2.1.4. Síndrome metabólico	24
2.1.5. El índice glucémico, IG, y la ingesta de alimentos	26
2.1.6. Hiperlipidemia y los alimentos	26
2.2. Definición de los edulcorantes	27
2.2.1. Función de los edulcorantes	29
2.3. Edulcorantes energéticos	29
2.3.1. Sacarosa	30
2.3.1.1. Historia	30
2.3.1.2. Metabolismo	30
2.3.1.3. Toxicología	32
2.3.2. Fructosa	33
2.3.2.1. Historia	33
2.3.2.2. Metabolismo	35
2.3.2.3. Toxicología	36
2.4. Edulcorantes hipoenergéticos	37
2.4.1. Aspartame	38
2.4.1.1. Historia	38
2.4.1.2. Metabolismo	39
2.4.1.3. Toxicología	40
2.4.2. Acesulfame de potasio	40
2.4.2.1. Historia	40
2.4.2.2. Metabolismo	41
2.4.2.3. Toxicología	42
2.4.3. Sacarina	43
2.4.3.1. Historia	43
2.4.3.2. Metabolismo	44
2.4.3.3. Toxicología	44
2.4.4. Sucralosa	45
2.4.4.1. Historia	45
2.4.4.2. Metabolismo	46
2.4.4.3. Toxicología	46
2.4.5. Sal de aspartame-acesulfame (E962)	47

2.5.	Efectos secundarios de los edulcorantes	48
	2.5.1. Ingesta diaria admisible (IDA)	49
	2.5.2. Vías biológicas para el metabolismo de los edulcorantes naturales	49
	2.5.2.1. Glucólisis	50
	2.5.2.2. Gluconeogénesis	51
	2.5.2.3. Glucógeno	51
2.6.	Efectos de los edulcorantes	53
	2.6.1. Proteínas de unión al elemento de respuesta a esteroides (<i>SREBP</i>)	53
	2.6.1.1. Hígado	54
	2.6.1.2. Tejido adiposo	55
	2.6.1.3. Páncreas	56
	2.6.2. Proteína ligante con elementos de respuesta a hidratos de carbono (<i>ChREBP</i> , <i>Carbohydrate Response Element-Binding Protein</i> , en inglés)	58
2.7.	Fisiología de algunos órganos de interés	62
	2.7.1. Hígado	62
	2.7.2. Páncreas	63
	2.7.3. Riñón	64
	2.7.4. Corazón	65
	2.7.5. Tejido retroperitoneal o adiposo	66
2.8.	Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (roedores) (Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999).	67
	2.8.1. Alimento	67
	2.8.2. Restricción de líquido o del alimento	68
	2.8.3. Salud animal (DOF, 1999)	68
	2.8.4. Espacio mínimo para roedores de laboratorio	69
	2.8.5. Anestesia	70
	2.8.6. Medicación preanestésica	70
	2.8.7. Eutanasia	70
CAPÍTULO 3	Metodología propuesta durante el desarrollo experimental	72
3.1.	Desarrollo experimental	72
3.2.	Condiciones experimentales	72
3.3.	Orden que tuvieron las ratas al colocarlas como lo indicado en la culebra japonesa	75
3.4.	Preparación de la dieta	75
	3.4.1. Alimentación	75
	3.4.2. Ingredientes de la formulación	78
	3.4.3. Análisis químico informativo de la dieta	78
3.5.	Preparación del agua de beber empleada para el desarrollo de la prueba	79
3.6.	Registro de ganancias en masa corporal y de consumo de alimento y agua endulzada	80
3.7.	Eutanasia de los especímenes bajo estudio	81
3.8.	Dissección de los órganos de interés	81
3.9.	Estudios químicos en sangre y orina después de la eutanasia	82
3.10.	Estudios sobre la medición de <i>ARN</i> mediante <i>PCR</i>	83
3.11.	Análisis estadísticos	84

CAPÍTULO 4	Resultados y discusión	85
4.1.	Incremento de masa corporal	86
	4.1.1. Análisis intergrupos: Primer etapa de 104 días	89
	4.1.2. Análisis intergrupos: Segunda etapa de 197 días	94
	4.1.3. Análisis intergrupos: Tercera etapa de 288 días	97
	4.1.4 Correlación entre la ingesta diaria de alimento y la ganancia en masa corporal	101
	4.1.4.1. Análisis estadístico intergrupos Primer etapa de 104 días	102
	4.1.4.2. Análisis estadístico intergrupos Segunda etapa de 197 días	104
	4.1.4.3. Análisis estadístico intergrupos Tercera etapa de 288 días	106
	4.1.5. Discusión de los hallazgos	107
4.2.	Volumen de agua ingerido	109
	4.2.1. Ingesta diaria de edulcorante, IDE	111
	4.2.2. Análisis estadístico de los tres bloques de experimentación: 104 días, 197 días, 288 días	111
	4.2.2.1. Análisis estadístico intergrupos Primer etapa de 104 días	112
	4.2.2.2. Análisis estadístico intergrupos Segunda etapa de 197 días	115
	4.2.2.3. Análisis estadístico intergrupos Tercera etapa de 288 días	119
	4.2.3. Comparación con la ingesta diaria admisible, ID la ingesta diaria de edulcorante, IDE, y la ganancia en masa corporal	123
4.3.	Balance energético (Consumo calórico)	126
	4.3.1. Análisis estadístico de los tres bloques de experimentación: 104 días, 197 días, 288 días	127
	4.3.1.1. Análisis estadístico intergrupos Primer etapa de 104 días	127
	4.3.1.2. Análisis estadístico intergrupos Segunda etapa 197 días	129
	4.3.1.3. Análisis estadístico intergrupos Tercera etapa 288 días	131
4.4.	Parámetros bioquímicos	132
	4.4.1. Colesterol	133
	4.4.1.1. Análisis estadístico de los tres bloques de experimentación: 104 días, 197 días, 288 días	134
	4.4.1.2. Análisis intergrupos: Primer etapa de 104 días	135
	4.4.1.3. Análisis intergrupos: Segunda etapa de 197 días	136
	4.4.1.4. Análisis intergrupos: Tercera etapa de 288 días	137
	4.4.2. Triglicéridos	139
	4.4.2.1. Análisis estadístico de los tres bloques de experimentación: 104 días, 197 días, 288 días	141
	4.4.2.2. Análisis intergrupos: Primer etapa de 104 días	141
	4.4.2.3. Análisis intergrupos: Segunda etapa de 197 días	141
	4.4.2.4. Análisis intergrupos: Tercera etapa de 288 días	143
	4.4.3. Glucosa	145
	4.4.3.1. Análisis estadístico de los tres bloques de experimentación: 104 días, 197 días, 288 días	145
	4.4.3.2. Análisis intergrupos: Primer etapa de 104 días	146
	4.4.3.3. Análisis intergrupos: Segunda etapa de 197 días	147

	4.4.3.4. Análisis intergrupos: Tercera etapa de 288 días	149
	4.4.4. Insulina	150
	4.4.4.1. Análisis estadístico de los tres bloques de experimentación: 104 días, 197 días, 288 días	150
	4.4.4.2. Análisis intergrupos: Primer etapa de 104 días	150
	4.4.4.3. Análisis intergrupos: Segunda etapa de 197 días	152
	4.4.4.4. Análisis intergrupos: Tercera etapa de 288 días	153
	4.4.5. Proteína de respuesta de unión a esteroides (<i>SREBP-1</i>)	154
	4.4.6. Proteína de unión al elemento de respuesta de hidratos de carbono (<i>ChREBP</i>)	156
	4.4.7. Discusión de los hallazgos	158
4.5.	Análisis histológicos de los órganos colectados	161
	4.5.1. Hígado	162
	4.5.2. Riñón	163
	4.5.3. Corazón	164
	4.5.4. Tejido retroperitoneal	164
	4.5.5. Páncreas	165
CAPÍTULO 5.	Discusión final	170
CAPÍTULO 6.	Conclusiones y recomendaciones	175
	6.1. Conclusiones	175
	6.2. Recomendaciones	176
ANEXOS		177
ANEXO 1	Características generales del modelo animal	177
	A.1.1. Datos fisiológicos	177
	A.1.2. Valores hematológicos	178
	A.1.3. Valores de vida media en ratas de laboratorio	178
ANEXO 2	Determinación de parámetros bioquímicos	182
	A.2.1. Determinación de colesterol (Anónimo, 2009a)	182
	A.2.2. Determinación de triglicéridos (Anónimo, 2009b)	184
	A.2.3. Determinación de glucosa en suero (Anónimo, 2009c)	188
	A.2.4. Insulina (Millipore, 2012)	191
ANEXO 3	Reacción en cadena de la polimerasa (<i>PCR</i>, en inglés) (Vinuela, 2009)	195
	A.3.1. Transcripción reversa en la <i>PCR</i> en tiempo real	196
	A.3.2. ARN Mensajero (Vinuela, 2009)	197
ANEXO 4	Tablas de vaciado de datos (registro de la parte biológica a los 104, 197 y 288 días): Consumo de alimentos, de líquido, masa corporal, consumo real de edulcorante	201
ANEXO 5	Acervo fotográfico de los especímenes en estudio incluyendo sacrificio y disección de órganos (a los 104, 197 y 288 días)	221
BIBLIOGRAFÍA		268
Listado de figuras, gráficas, tablas y fotografías		
Figura 2.1.	Datos de la encuesta realizada en México en el año 2006 (ENSANut, 2000)	18

Figura 2.2.	Datos de la primera evaluación del programa de desayunos escolares en México (ANPRAC, 2011, Calvillo y col., 2007)	20
Figura 2.3.	Comunicado “Por los Derechos del Consumidor y contra los Monopolios” (Consumidores, 2011)	21
Figura 2.4.	Vías y señales implicadas en regulación central de la ingesta y la homeostasis energética (Palou y col., 2004)	24
Figura 2.5.	Estructura de la sacarosa	30
Figura 2.6.	Gráfica tomada del artículo "Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease" (Johnson y col., 2007), complementado con datos de consumo de mieles fructosadas en los EEUU	32
Figura 2.7a.	Estructura de la fructosa	34
Figura 2.7b.	Metabolismo de la fructosa donde VLDL= Lipoproteínas de muy baja densidad (Esquivel Solís y Gómez-Salas, 2007)	35
Figura 2.8a.	Estructura del aspartame	38
Figura 2.8b.	Metabolismo del aspartame en el intestino (Stegink y col., 1987)	39
Figura 2.8c.	Estructura del acesulfame de potasio o acesulfamo de potasio	41
Figura 2.8d.	Síntesis del acesulfame o acesulfamo de potasio (Clauss y col, 1986)	42
Figura 2.9a.	Estructura de la sacarina	43
Figura 2.9b.	Síntesis de la sacarina (Scribd, 2009)	44
Figura 2.10a.	Estructura de la sucralosa	46
Figura 2.10b.	Síntesis de la sucralosa (Gutiérrez-Moreno y Carro-Suárez, 2005)	47
Figura 2.11.	Estructura química de la mezcla de sales Aspartame-acesulfame	47
Figura 2.12a.	Principales rutas de utilización de la glucosa (Lehninger, 2006)	50
Figura 2.12b.	Glucólisis y glucogénesis (Lehninger, 2006)	52
Figura 2.12c.	Gránulos de glucógeno en un hepatocito; estos gránulos se forman en el citosol y son mucho más pequeños ($\approx 0.1 \mu\text{m}$) (Lehninger, 2006)	53
Figura 2.13a.	Descripción de las rutas metabólicas inducidas por las proteínas <i>SREBP-1c</i> en hígado (Casado-Pinna, 2009)	56
Figura 2.13b.	Representación esquemática de la función fisiológica <i>SREBP-1c</i> en distintos tejidos (Vernia-Miralles, 2007)	58
Figura 2.13c.	Acción coordinada de <i>SREBP-1c</i> y <i>ChREBP</i> en la regulación de la expresión de genes glucolítico/lipogénicos (<i>GK</i> =Glucocinasa) (Casado-Pinna, 2009)	61
Figura 2.14a.	Anatomía del hígado (Google, 2011)	62
Figura 2.14b.	Anatomía del páncreas (Google, 2011)	63
Figura 2.14c.	Anatomía del riñón (Google, 2011)	64
Figura 2.14d.	Anatomía del corazón (Google, 2011)	66
Figura 2.14e.	Anatomía del tejido adiposo (Google, 2011)	67
Figura 3.1.	Metodología para el desarrollo experimental	73
Figura 3.2.	Ratas recién destetadas en etapa de adaptación al régimen de alimento sólido	72
Figura 3.3a.	Distribución homogénea de las ratas para bioensayo	74

Figura 3.3b.	Marcado de oreja por medio de muesca para su identificación	75
Figura 3.3c.	Identificación de ratas por medio de la muesca en la oreja	75
Figura 3.4. (a,b,c,d)	Fotos de los anaqueles rodantes (“Racks”) donde se colocaron las ratas	77
Figura 3.5a.	Bebedores limpios y preparación de las soluciones con los edulcorantes calóricos	80
Figura 3.5b.	Medición del volumen de solución acuosa ingerido	80
Figura 3.6.	Balanza analítica para registro de masa corporal y ingestión diaria de alimentos	81
Figura 3.7a.	Jaulas metabólicas para la recolección separada de orina	82
Figura 3.7b.	Cámara donde se introduce CO₂ para adormecer al espécimen	82
Figura 3.7c.	Guillotina para roedores	82
Figura 3.8a.	Disección de los especímenes por parte del personal especializado FMVZ-UNAM	83
Figura 3.8b.	Disección del hígado especímenes por parte del personal especializado FMVZ-UNAM	83
Figura 4.1.	Histologías en corte de hígado	162
Figura 4.2.	Histologías en corte de riñón	163
Figura 4.3.	Histologías en corte de tejido retroperitoneal	164
Figura 4.4.	Histologías en corte de páncreas	165
Figura 4.5.	Vida media de las ratas	169
Figura A.1.1.	Certificados de Salud de las ratas otorgados por el Centro Harlan México	180
Figura A.1.2.	Reporte de seguimiento de salud, Harlan Estados Unidos (EEUU)	181
Figura A.2.1.	Reacciones acopladas para la cuantificación de colesterol (Pérez-Rico,2010)	182
Figura A.2.2.	Reacciones acopladas para la cuantificación de triglicéridos	185
Tabla 2.1.	Valores de la ingesta diaria admisible, IDA, recomendada para humanos de algunos edulcorantes	49
Tabla 2.2.	Espacio mínimo para roedores del laboratorio (DOF, 1999)	69
Tabla 3.1b.	Acomodo de los animales en el anaquel rodante 1 dentro de la Unidad Experimental Animal (UNEXA) de la Facultad de Química de la UNAM	76
Tabla 3.2.	Acomodo de los animales en el anaquel rodante 2 dentro de la Unidad Experimental Animal (UNEXA) de la Facultad de Química de la UNAM	76
Tabla 3.3.	Acomodo de los animales en el anaquel rodante 3 dentro de la Unidad Experimental Animal (UNEXA) de la Facultad de Química de la UNAM	76
Tabla 3.4.	Acomodo de los animales en el anaquel rodante 4 dentro de la Unidad Experimental Animal (UNEXA) de la Facultad de Química de la UNAM	77
Tabla 4.1.	Promedios de masa corporal para cada lapso de experimentación	89
Tabla 4.2.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la diferencia de masa final y masa inicial durante los primeros 104 días según el tipo de edulcorante	92
Tabla 4.3.	Contraste múltiple de rango para el promedio del	93

	incremento de masa durante 104 días según el tipo de edulcorante (de mayor a menor masa corporal)	
Tabla 4.4.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la diferencia de masa final e inicial durante el lapso de 197 días según el tipo de edulcorante	96
Tabla 4.5.	Contraste múltiple de rango para el promedio del incremento de masa durante 197 días según el tipo de edulcorante	96
Tabla 4.6.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la diferencia de masa final y masa inicial durante los 288 días según el tipo de edulcorante	98
Tabla 4.7.	Contraste múltiple de rango para el promedio del incremento de masa durante 288 días según el tipo de edulcorante	98
Tabla 4.8.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del alimento a los 104 días según el tipo de edulcorante	103
Tabla 4.9.	Contraste múltiple de rango para el promedio del alimento consumido diario a los 104 días según el tipo de edulcorante	104
Tabla 4.10.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del alimento acumulado a los 197 días según el tipo de edulcorante	104
Tabla 4.11.	Contraste múltiple de rango para el promedio del consumo de alimento en g a los 197 días según el tipo de edulcorante	105
Tabla 4.12.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del alimento ingerido durante los 288 días según el tipo de edulcorante	106
Tabla 4.13.	Contraste múltiple de rango para el promedio del alimento consumido a 288 días según el tipo de edulcorante	107
Tabla 4.14.	Tabla de preparación de soluciones (Ortega-Gutiérrez, 2010)	109
Tabla 4.14a.	Tabla de fuentes naturales de edulcorantes, usos, energía (en kcal) y potencial edulcorante, PE	110
Tabla 4.14b.	Tabla de fuentes artificiales de edulcorantes, usos, energía (en kcal), potencial edulcorante, PE e ingesta diaria admisible, IDA	110
Tabla 4.15.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del volumen consumido a los 104 días según el tipo de edulcorante	112
Tabla 4.16.	Contraste múltiple de rango para el promedio de volumen de agua ingerido, mL, durante 104 días según el tipo de edulcorante	113
Tabla 4.17.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la ID durante los 104 días según el tipo de edulcorante	114
Tabla 4.18.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la ingesta diaria experimental, IDE, en mg/kg mc, durante 104 días según el tipo de edulcorante	115
Tabla 4.19.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del volumen durante los 197 días según el tipo de edulcorante	116

Tabla 4.20.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la solución consumida, en mL, durante 197 días según el tipo de edulcorante	117
Tabla 4.21.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la ingesta diaria experimental, IDE, en mg/kg mc, durante el lapso de 197 días según el tipo de edulcorante	118
Tabla 4.22.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la ingesta diaria experimental, IDE, en mg/kg mc, durante 197 días según el tipo de edulcorante	118
Tabla 4.23.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del volumen a los 288 días según el tipo de edulcorante	120
Tabla 4.24.	Contraste múltiple de rango para el promedio del volumen consumido, mL, a los 288 días según el tipo de edulcorante	121
Tabla 4.25.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la IDE, en mg/kg mc, a los 288 días según el tipo de edulcorante	121
Tabla 4.26.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la IDE, en mg/kg mc, a los 288 días según el tipo de edulcorante	122
Tabla 4.27.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la energía consumida medida como kilocalorías, a los 104 días, según el tipo de edulcorante	128
Tabla 4.28.	Contraste múltiple de rango para el promedio de energía consumida medida como kilocalorías por día a los 104 días según el tipo de edulcorante	128
Tabla 4.29.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del alimento acumulado a los 197 días según el tipo de edulcorante	129
Tabla 4.30.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la energía consumida medida en kilocalorías por día los 197 días según el tipo de edulcorante	130
Tabla 4.31.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el consumo de energía promedio medido como kilocalorías a los 288 días según el tipo de edulcorante	131
Tabla 4.32.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la energía consumida medida en kilocalorías a los 288 días según el tipo de edulcorante	131
Tabla 4.33.	Promedios de la concentración de colesterol para cada lapso de experimentación (< 200 – 240 mg/dL)	133
Tabla 4.34.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de colesterol durante los 104 días según el tipo de edulcorante	135
Tabla 4.35.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de colesterol a los 104 días según el tipo de edulcorante	135
Tabla 4.36.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de colesterol a los 197 días según el tipo de edulcorante	136
Tabla 4.37.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de colesterol a los 197 días según el tipo de edulcorante	137

Tabla 4.38.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de colesterol a los 288 días según el tipo de edulcorante	138
Tabla 4.39.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de colesterol durante 288 días según el tipo de edulcorante	138
Tabla 4.40.	Promedios de la concentración de triglicéridos para cada lapso de experimentación (< 200 mg/dL)	140
Tabla 4.41.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de triglicéridos a los 104 días según el tipo de edulcorante	141
Tabla 4.42.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de triglicéridos a los 104 días según el tipo de edulcorante	142
Tabla 4.43.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de triglicéridos a los 197 días según el tipo de edulcorante	143
Tabla 4.44.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la Concentración de triglicéridos a los 197 días según el tipo de edulcorante	143
Tabla 4.45.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de triglicéridos a los 288 días según el tipo de edulcorante	144
Tabla 4.46.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de triglicéridos a los 288 días según el tipo de edulcorante	144
Tabla 4.47.	Tabla de promedios de la concentración de glucosa del plasma sanguíneo recolectado para cada lapso de experimentación	145
Tabla 4.48.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de glucosa a los 104 días según el tipo de edulcorante	146
Tabla 4.49.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de glucosa a los 104 días según el tipo de edulcorante	147
Tabla 4.50.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de glucosa a los 197 días según el tipo de edulcorante	148
Tabla 4.51.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de glucosa a los 197 días según el tipo de edulcorante	148
Tabla 4.52.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de glucosa a los 288 días según el tipo de edulcorante	149
Tabla 4.53.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de glucosa a los 288 días según el tipo de edulcorante	149
Tabla 4.54.	Promedios de la concentración de insulina para cada lapso de experimentación (< 1.2–2.4 ng/mL)	150
Tabla 4.55.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de insulina a los 104 días según el tipo de edulcorante	151
Tabla 4.56.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración insulina a los 104 días según el tipo de edulcorante	152

Tabla 4.57.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de insulina a los 197 días según el tipo de edulcorante	152
Tabla 4.58.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración insulina durante 197 días según el tipo de edulcorante	153
Tabla 4.59.	Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de insulina a los 288 días según el tipo de edulcorante	153
Tabla 4.60.	Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración insulina a los 288 días según el tipo de edulcorante	154
Tabla 4.61.	Promedios de la expresión relativa del gen <i>SREBP-1</i> para cada lapso de experimentación	155
Tabla 4.62.	Datos promedio de la expresión relativa del gen <i>ChREBP</i> para cada lapso de experimentación	158
Tabla 4.63.	Concentraciones altas de colesterol y triglicéridos para cada bloque de tiempo	159
Tabla 4.64.	Concentraciones altas de glucosa e insulina para cada bloque de tiempo	160
Tabla 4.65.	Expresión relativa de los genes <i>SREBP-1</i> y <i>ChREBP</i> para cada bloque de tiempo	161
Tabla 4.66a.	Datos promedio para los análisis histológicos en hígado	166
Tabla 4.66b.	Datos promedio para los análisis histológicos en riñón	166
Tabla 4.66c.	Datos promedio para los análisis histológicos en corazón	167
Tabla 4.66d.	Datos promedio para los análisis histológicos en páncreas	167
Tabla 4.66e.	Datos promedio para los análisis histológicos en tejido retroperitoneal	168
Gráfica 4.1.	Promedio del incremento de masa corporal diaria de cada edulcorante durante las etapas de experimentación	87
Gráfica 4.2.	Masa corporal (104 días; n=5)	91
Gráfica 4.3.	Comparación entre medias del promedio del incremento en masa corporal a los 104 días por edulcorante, empleando un $\alpha=0.05$	92
Gráfica 4.4.	Masa corporal (190 días; n=10)	95
Gráfica 4.5.	Comparación entre medias del promedio del incremento en masa corporal a los 197 días por cada grupo de edulcorante, empleando un $\alpha=0.05$	97
Gráfica 4.6.	Masa corporal (9 meses; n=5)	99
Gráfica 4.7.	Comparación entre medias del promedio del incremento en masa durante 288 días por edulcorante, empleando un $\alpha=0.05$	100
Gráfica 4.8.	Promedios del consumo diario de alimento (n=120,104 días; n=80,197 días; n=40, 288 días)	101
Gráfica 4.9.	Comparación entre medias del promedio de alimento consumido a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	103
Gráfica 4.10.	Comparación entre medias del promedio del alimento consumido a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	105
Gráfica 4.11.	Comparación entre medias del promedio del alimento consumido a los 288 días de experimentación, empleando	106

	$\alpha=0.05$	
Gráfica 4.12.	Promedio de volumen de solución consumida diariamente (n=120,104 días; n=80,197 días; n=40, 288 días)	111
Gráfica 4.13.	Comparación entre medias del promedio de la solución consumida a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	113
Gráfica 4.14.	Promedio del edulcorante diario ingerido (n=5, 104 días)	114
Gráfica 4.15.	Comparación entre medias del promedio de la ID a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	115
Gráfica 4.16.	Promedio de edulcorante diario ingerido, IDE (ingesta diaria experimental) (n=5, 198 días)	116
Gráfica 4.17.	Comparación entre medias del promedio de la solución consumida a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	117
Gráfica 4.18.	Comparación entre medias del promedio de la ingesta diaria experimental, IDE, mg/kg mc, a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	119
Gráfica 4.19.	Promedio del edulcorante diario ingerido (n=5, 288 días)	119
Gráfica 4.20.	Comparación entre medias del promedio del volumen consumido, en mL, a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	120
Gráfica 4.21.	Comparación entre medias de la IDE a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	122
Gráfica 4.22.	Promedio de la energía ingerida (n=5, para cada lapso)	127
Gráfica 4.23.	Comparación entre medias del promedio de la energía consumida en kilocalorías por día a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	129
Gráfica 4.24.	Comparación entre medias del promedio de la energía consumida medida en kilocalorías por día a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	130
Gráfica 4.25.	Comparación entre medias del promedio de energía consumida medida como kilocalorías por día a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	132
Gráfica 4.26.	Promedio de la concentración de colesterol (288 días)	134
Gráfica 4.27.	Comparación entre medias del promedio del colesterol a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	136
Gráfica 4.28.	Comparación entre medias del promedio del colesterol a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	137
Gráfica 4.29.	Comparación entre medias del promedio del colesterol a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	139
Gráfica 4.30.	Promedio de la concentración de triglicéridos a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	140
Gráfica 4.31.	Comparación entre medias del promedio de triglicéridos a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	142
Gráfica 4.32.	Comparación entre medias del promedio de triglicéridos a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	143
Gráfica 4.33.	Comparación entre medias del promedio de triglicéridos a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	144
Gráfica 4.34.	Promedio de los valores de la concentración de glucosa (288 días)	146
Gráfica 4.35.	Comparación entre medias del promedio de glucosa a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	147
Gráfica 4.36.	Comparación entre medias del promedio de glucosa a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	148
Gráfica 4.37.	Comparación entre medias del promedio de glucosa a los	149

	288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	
Gráfica 4.38.	Promedio de la concentración de insulina (288 días)	151
Gráfica 4.39.	Comparación entre medias del promedio de insulina a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	152
Gráfica 4.40.	Comparación entre medias del promedio de insulina a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	153
Gráfica 4.41.	Comparación entre medias del promedio de insulina a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$	154
Gráfica 4.42.	Promedio de la expresión de genes de <i>SREBP-1</i> (288 días de experimentación)	155
Gráfica 4.43.	Valores promedio de la expresión de genes de <i>ChREBP</i> (288 días)	157
Gráfica A.1.	Masa corporal promedio de ratas Wistar machos y hembras a lo largo de 105 semanas (2 años)	178
Gráfica A.2.	Consumo diario promedio de alimento de ratas Wistar machos y hembras a lo largo de 105 semanas (2 años)	179

GLOSARIO

AAA. Acetoacetoamida

ACK. Acesulfame de potasio

AAS. Ácido acetoamido-N-sulfónico

Acesulfame de potasio. Edulcorante sintético desarrollado en 1967 en la empresa por Hoechst AG. Se le considera prácticamente libre de calorías ya que es unas 200 veces más dulce que el azúcar y que, como no es metabolizado por el cuerpo humano, según sus fabricantes, se elimina del organismo sin ninguna modificación

Actividad física. La actividad física voluntaria es todo tipo de movimiento corporal que realiza el ser humano durante un determinado periodo, ya sea en su trabajo o actividad laboral

Ad libitum. En latín, libre acceso. Cuando se trata de la ingestión de alimentos o bebidas se refiere a que no hay ninguna restricción de su consumo

ADN (Ácido desoxirribonucleico). Es una molécula de doble cadena formada por dos cadenas de polinucleótidos enrolladas en espiral, formando una doble hélice, cada cadena está compuesta de una columna de azúcar-fosfato que forman el esqueleto externo y cuatro bases nitrogenadas que son adenina (A), timina (T), citosina (C) y guanina (G) que se disponen hacia el interior, las dos cadenas son antiparalelas manteniéndose unidas mediante enlaces de hidrógeno. Las cadenas son complementarias, la adenina siempre con la timina y la guanina con la citosina. En él está toda la información genética necesaria para el funcionamiento y desarrollo de un ser vivo, su estructura fue establecida por Crick y Watson

Adipocito. Las **células adiposas, adipocitos o lipocitos** son las células que forman el tejido adiposo. Son células redondeadas, de 10 a 200 micrómetros, con un contenido lipídico que representa el 95% de su masa celular formando el elemento constitutivo del tejido graso. Su característica fundamental es que almacenan una gran cantidad de triglicéridos y colesterol esterificado, como reserva energética que, en el caso de los adipocitos del tejido adiposo blanco (el más abundante en el organismo humano adulto) se agrupan formando una gran gota que ocupa la mayoría de la célula, desplazando al resto de los orgánulos u organelos a la periferia. Es un tipo celular derivado del fibroblasto cuya principal función es almacenar lípidos en los tejidos adiposos blanco y pardo

Agua. Compuesto químico formado por dos partes de hidrógeno y una parte de oxígeno, en volumen. Puede tener en solución o en suspensión a otros materiales sólidos, líquidos o gaseosos. Su fórmula es H₂O.

Agua potable. Agua exenta de contaminación objetable e inocua, y que se considera satisfactoria para el consumo humano según la NOM-127-SSA1-1994 de México.

Alimento. Es la sustancia que se ingiere, bebe o se absorbe por cualquier ser vivo ya que el término alimento incluye también bebidas líquidas, como la leche. Los alimentos son la principal fuente de energía y nutrición de animales, siendo considerados generalmente aquellos de origen animal o vegetal.

Almidón. El almidón es un polisacárido de reserva alimenticia predominante en las plantas el cual proporciona del 70-80% de las calorías consumidas por los humanos de todo el mundo. Tanto el almidón como los productos de la hidrólisis del almidón constituyen la mayor parte de los hidratos de carbono que son digeridos en el llamado aparato digestivo

AMPc. ver cAMP

AMPK (siglas en inglés). Es una enzima que se activa con el incremento en la relación AMP/ATP, por lo que se le considera un sensor de energía celular que contribuye a regular el balance energético y la ingesta calórica

Amilosa. Es el producto de la condensación de D-glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos α (1, 4), es decir, la amilosa es una α -D-(1,4)-glucana. Homopolisacárido constituido por unidades de D-glucosa

Amilopectina. Se diferencia de la amilosa en que contiene ramificaciones que le dan una forma molecular como la de un árbol; las ramas están unidas al tronco central (semejante a la amilosa)

por enlaces α -D-(1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa. La amilopectina constituye alrededor del 75% de los almidones más comunes

Amplicon. Conjunto de moléculas de ADN idénticas, resultado de una reacción en cadena de la polimerasa (PCR), esencialmente se trata de un clon molecular

Anabolismo. Es todo proceso constructivo por medio del cual las sustancias simples se convierten en compuestos más complejos por la acción de células vivientes; primera fase del metabolismo, en oposición a la de catabolismo

Anaquele rodante para jaulas de animales modelo (rack en inglés). Anaqueles de rejillas metálicas con láminas puestas horizontalmente sobre ruedas, para colocar sobre ellas jaulas de animales de laboratorio

Andeva (Anova). Análisis de varianza, ANOVA por sus siglas en inglés

ARNm (Ácido ribonucleico mensajero). Copia la información genética del ADN nuclear y la transporta a los ribosomas

ARNr (ARN ribosómico). Se asocia a las proteínas y forma los ribosomas, donde se sintetizan las proteínas

ARNt (ARN transferente). Se une a los aminoácidos y los transporta al ribosoma para formar proteínas

Aspartame. Es el nombre de un edulcorante artificial, *Aspartil-fenilalanina-1-metil éster*, es la unión de dos aminoácidos ácido aspártico y la fenilalanina. Tiene una clave en la EU, E962

ATP (adenosín-5'-trifosfato o adenosina trifosfato). Es una molécula utilizada por todos los organismos vivos para proporcionar energía en las reacciones químicas. También es el precursor de una serie de coenzimas esenciales como el NAD⁺ o la coenzima A. Es uno de los cuatro monómeros utilizados en la síntesis de ARN celular, además es una coenzima de transferencia de grupos fosfato que se enlaza de manera no-covalente a las enzimas quinasas (co-sustrato).

Azúcar de mesa. Es el edulcorante más utilizado para la alimentación. Está constituido por la unión de dos moléculas, la fructosa y la glucosa. Tiene como característica que elimina o matiza el sabor ácido y amargo de muchos alimentos y también tiene cierta acción bacteriostática ya que anula el desarrollo de determinados microorganismos. Como edulcorante ha sido durante mucho tiempo el producto más utilizado y numeroso. Es un disacárido que no tiene poder reductor sobre el reactivo de Fehling y el reactivo de Tollens

Azúcar reductor. Los azúcares reductores son aquéllos que poseen su grupo carbonilo (grupo funcional) intacto y que, a través del mismo pueden reaccionar con otras especies. Los azúcares reductores provocan la alteración de las proteínas mediante la reacción de glucosilación no enzimática también denominada reacción de Maillard o glicación. Esta reacción se produce en varias etapas: las iniciales son reversibles y se completan en tiempos relativamente cortos, mientras que las posteriores transcurren más lentamente y son irreversibles. Se postula que tanto las etapas iniciales como las finales de la glucosilación están implicadas en los procesos de envejecimiento celular y en el desarrollo de las complicaciones crónicas de la diabetes

Bebida carbonatada. Son bebidas que contienen saborizantes, edulcorantes y otros ingredientes. Según el edulcorante que se utilice, las bebidas carbonatadas pueden contener cantidades altas o reducidas de calorías. El agregado de dióxido de carbono a presión brinda a las bebidas carbonatadas unas burbujas características. Cuando se abre el envase de una bebida carbonatada, el dióxido de carbono se libera en forma de burbujas. Estas burbujas intensifican el sabor de las bebidas en la lengua

Bebidas light. Las bebidas "light" (ligero en inglés) o dietéticas contienen edulcorantes artificiales cuyo contenido energético es muy bajo. La característica común de estas bebidas light es que se sustituye el azúcar por edulcorantes hipoenergéticos, de ahí que se consiga reducir prácticamente a cero la cantidad de calorías que aportan. En ellas, en vez de azúcar se tiene ciclamato de sodio, sacarina, sucralosa, aspartame, acesulfame de potasio, mezclas de ellos, etc.

Biodegradación. Proceso de descomposición de las sustancias orgánicas por medio de microorganismos (principalmente bacterias aerobias) en sustancias más simples como bióxido de carbono, agua y amoníaco

Caloría. Unidad de energía térmica equivalente a la cantidad de calor necesaria para elevar la temperatura de un gramo de agua en un grado centígrado, de 14.5 a 15.5°C, a la presión normal; equivale a 4.185 J

cAMP (Adenosina 3,5 monofosfato cíclico). Es el segundo mensajero en el interior de las células, su formación por la adenilil ciclasa a partir del ATP, es estimulada por ciertas hormonas u otras señales moleculares

Carbohidrato. Anglicismo que no existe en el diccionario. Su nombre en español es hidrato de carbono. Según el resultado de su hidrólisis, los *hidratos de carbono* se pueden clasificar en "polisacáridos", formados por muchas unidades separables por hidrólisis, "oligosacáridos", formados por unas cuantas unidades, y "monosacáridos", que son las unidades elementales que no producen, por hidrólisis, unidades de tamaño menor. Son moléculas orgánicas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno. Son solubles en agua y se clasifican de acuerdo con la cantidad de carbonos o por el grupo funcional que tienen adherido. Son la forma biológica primaria de almacenamiento y consumo de energía

Catalizador. Es una sustancia (compuesto o elemento) capaz de acelerar (catalizador positivo) o retardar (catalizador negativo o inhibidor) una reacción química, permaneciendo él mismo inalterado (no se consume durante la reacción). En el mundo natural hay catalizadores biológicos o biocatalizadores; los más importantes son las enzimas

CC. Cociente cintura-cadera, usado para la definición de obesidad

Célula. Es la unidad estructural y funcional principal de los seres vivos

Cetoacidosis diabética. Conocida en inglés como *DKA*, por sus siglas en inglés (*Diabetic ketoacidosis*) hace referencia a la diabetes grave, incontrolable (nivel alto de glucosa sanguínea). Se observa cuando la sangre carece de la insulina necesaria. El organismo empieza a utilizar como energía las grasas de reserva y se forman en la sangre cuerpos cetónicos (ácidos). Es un trastorno grave que aparece típicamente en la diabetes mellitus tipo-1 o juvenil

CHDL. Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (Zimmet y col., 2005). De *HDL*, siglas en inglés de lipoproteínas de alta densidad, *high density lipoproteins*

CLDL. Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad, es un tipo de lipoproteína

ChREBP. Siglas en inglés para proteína ligante con elementos de respuesta a hidratos de carbono (Uyeda y col., 2001), *Carbohydrate Response Element-Binding Protein*. Responsable de la regulación de la transcripción dependiente de glucosa, ya que es activo en una dieta rica en carbohidratos

Climaterio. Del griego κλιμακτήριον, escalón, período de la vida que precede y sigue a la extinción de la función genital

Colesterol. Lípido que el cuerpo necesita para formar hormonas, vitamina D y ácidos biliares. Solamente se encuentra en alimentos de origen animal

Colesterolemia. Presencia de altos niveles de colesterol en la sangre

Compuesto químico. En química un compuesto es una sustancia formada por la unión de dos o más elementos de la tabla periódica de los elementos químicos

Concentración. Es una medida de la cantidad de sustancias disueltas contenidas por unidad de volumen en solución. Puede expresarse como partes por millón o miligramos por litro, miliequivalentes por litro, granos por galón, libras por millón de galones, etc.

Contaminantes. Son aquellos elementos o compuestos que, en determinadas concentraciones, pueden producir efectos negativos en la salud humana y en el ambiente, dañar la infraestructura hidráulica o inhibir los procesos de tratamiento de las aguas residuales, del aire o del suelo

CT (Colesterol Total). Es la suma del HDL-colesterol (llamado colesterol bueno) + LDL-colesterol (colesterol malo) + VLDL-colesterol (valor calculado siempre que la cifra de triglicéridos no sea superior a 400 mg/dl. $VLDL\text{-colesterol} = \text{Triglicéridos} / 5$)

Densidad energética. Es el número de calorías que contiene un alimento por unidad de masa. Algunos alimentos, como las grasas, son especialmente altos en densidad energética

DEPC. Pirocarbonato de dietilo es un inhibidor irreversible de ribonucleasa se utiliza en el análisis *PCR*, por sus siglas en inglés. Reacciona con un residuo de histidina de sitio activo en la ribonucleasa, formando un carbamato y liberando una molécula de dióxido de carbono y etanol.

Diabetes mellitus. Es una enfermedad metabólica caracterizada por hiperglucemia (aumento de los niveles de glucosa en sangre), resultado de defectos en la secreción de insulina, en su acción o ambas. Se trata de una compleja enfermedad en la que coexiste un trastorno global del metabolismo de los hidratos de carbono, de las grasas y de las proteínas. Es considerada como enfermedad multifactorial por la existencia de múltiples factores implicados en su patogénesis

Diabetes mellitus tipo 1. Se da en algunas personas propensas a esta enfermedad en la época temprana de su vida y se caracteriza por un déficit absoluto de insulina, dado por la destrucción de las células beta del páncreas por procesos autoinmunes ó idiopáticos

Diabetes mellitus tipo II. Se caracteriza por un complejo mecanismo fisiopatológico, que se caracteriza por el déficit relativo de producción de insulina y por una deficiente utilización periférica por los tejidos de glucosa (resistencia a la insulina). Se desarrolla a menudo en etapas adultas de la vida y es muy frecuente su asociación con la obesidad

Diabetes gestacional. Es la hiperglucemia que se identifica por vez primera durante el embarazo. Sus síntomas son similares a los de la diabetes de tipo 2, pero suele diagnosticarse por las pruebas realizadas durante los exámenes prenatales, más que por la manifestación de síntomas

Dieta. La dieta es el conjunto de hábitos o comportamientos alimenticios o nutricionales de una persona o población. La dieta forma parte de los estilos de vida de las personas. Puede decirse que los términos dieta, ingesta, alimentación, nutrición y gastronomía, son términos semejantes, pero con ligeros matices

Dislipidemia. Conjunto de patologías caracterizadas por alteraciones en la concentración de lípidos sanguíneos en niveles que involucran un riesgo para la salud: Comprende situaciones clínicas en que existen concentraciones anormales de colesterol total (CT), colesterol de alta densidad (C-HDL, por sus siglas en inglés), colesterol de baja densidad (C-LDL, por sus siglas en inglés) o triglicéridos (TG). Las dislipidemias constituyen un factor de riesgo mayor y modificable de enfermedad cardiovascular, en especial coronaria. Niveles muy altos de TG se asocian también al desarrollo de pancreatitis aguda

Disacárido. Los disacáridos son un tipo de hidratos de carbono o hidratos de carbono, formados por la unión de dos monosacáridos iguales o distintos

DKA (en inglés *Diabetic Ketoacidosis*). La cetoacidosis diabética representa la descompensación extrema de la diabetes mellitus caracterizada por trastornos en el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y grasas, los rasgos clínicos típicos son: hiperglicemia, acidosis y cetosis.

Dimer. Estructura química formada a partir de dos subunidades

DOF. Diario Oficial de la Federación (México)

ECV. Enfermedades cardiovasculares

Edulcorantes. Sustancias que endulzan los alimentos o medicamentos. Pueden ser naturales o sintéticos. Entre los naturales se encuentran la sacarosa, la fructosa y los polialcoholes y entre los sintéticos están la sacarina y el aspartame, entre otros

Energía. El término energía tiene varias acepciones y definiciones, aunque todas ellas dan idea de una capacidad para obrar, transformar y poner algún objeto en movimiento

Enfermedad. Una enfermedad es cualquier trastorno anormal del cuerpo o la mente que provoca malestar y alteración de las funciones normales

Enterocitos. Células epiteliales del intestino encargadas de "romper" diversas moléculas alimenticias y transportarlas al interior del cuerpo humano. Se encuentran en el intestino delgado y en el colon

Enzima. Las enzimas son biocatalizadores de naturaleza proteínica. Todas las reacciones químicas del metabolismo celular se realizan gracias a la acción de catalizadores o enzimas. La sustancia sobre la que actúa una enzima se denomina sustrato

Epidemia. Es una descripción en la salud comunitaria que ocurre cuando una enfermedad afecta a un número de individuos superior al esperado en una población durante un tiempo determinado. Para evitar el sensacionalismo que conlleva esta palabra en ocasiones se utiliza el sinónimo de brote epidémico o brote

Estilo de vida. En epidemiología, el estilo de vida, hábito de vida, forma de vida son un conjunto de comportamientos o actitudes que desarrollan las personas, que unas veces son saludables y otras son nocivas para la salud. En los países desarrollados los estilos de vida poco saludables son los que causan la mayoría de las enfermedades

Espécimen. Muestra, modelo, ejemplar, normalmente con las características de su especie muy bien definidas

Esterol elemento regulador de la proteína de unión (SREBP-1, por sus siglas en inglés). Regulan la homeostasis lipídica del organismo controlando la expresión de numerosos enzimas necesarios para la síntesis de colesterol, ácidos grasos, triglicéridos y fosfolípidos. Esta familia

está constituida por tres isoformas que intervienen en procesos específicos: *SREBP1c* que está implicado en la síntesis de ácidos grasos, en la homeostasis del tejido adiposo y en el metabolismo glucídico inducido por insulina principalmente en el hígado

Estrés. El estrés, es toda demanda física o psicológica que se le haga al organismo. Puede dividirse según varios factores, por ejemplo en “hipoestrés” (poco estrés) e “hiperestrés” (mucho estrés), “distrés” (un estrés negativo, en el cual las demandas son muy grandes para nuestro organismo) y “eustress” (estrés positivo, cuando el estrés estimula a mejorarnos y superarlo), “estrés agudo” (muy poco estrés pero muy fuerte, como un choque, *shock* en inglés, emocional) y “estrés crónico” (un estrés leve que dura mucho tiempo)

Estreptozotocina (STZ). Un antibiótico que es producido por el *Streptomyces achromogenes* y es utilizado como un agente antineoplásico y para inducir diabetes en animales de experimentación

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (*FAO*, siglas en inglés de *Food and Agriculture Organization*)

FAS en inglés. Ácido graso sintasa

FDA. Administración de Alimentos y Fármacos por sus siglas en inglés (*Food and Drug Administration*), es la agencia del gobierno de los Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos, y medicamentos tanto para seres humanos como para animales.

Fenilcetonuria. Enfermedad infantil metabólica progresiva, que puede causar retraso mental. Se presenta al haber déficit de una enzima producida en el hígado, la fenil hidroxilasa, que interviene en el metabolismo del aminoácido fenilalanina

Glu-6p. Glucosa-6-fosfato

FK. Siglas en inglés para la fructoquinasa o fructocinasa

FFK. (Siglas en inglés) de la fosfofructoquinasa es una enzima quinasa que cataliza la fosforilación de la Fructosa 6-fosfato

Fórmula química. La fórmula molecular es la fórmula química que indica los números de átomos distintos presentes en la molécula. Ésta es la máxima expresión ya que la fórmula molecular es la cantidad real de átomos que conforman una molécula

Fructosa. La fructosa es un endulzante natural obtenido de la fruta. Los médicos la han recomendado a los diabéticos porque su metabolismo es diferente al de la glucosa que requiere de la insulina para metabolizarla. Es una cetohexosa (6 átomos de carbono)

Furanosa. Estructura química que contiene cinco átomos de carbono

KSIS. Secreción de insulina estimulada por potasio

Gen. Es una secuencia ordenada de nucleótidos en la molécula de ADN (o ARN en el caso de algunos virus), que contiene la información necesaria para la síntesis de una macromolécula con función celular específica, normalmente proteínas, pero también ARNm, ARNr y ARNt.

GI. Ver IG (Siglas en inglés) Glycemic Index

GP. Glucosa fofato

GK. (Glucokinase en inglés) Glucoquinasa

Gliales. Son células *nodriza* del sistema nervioso que desempeñan, de forma principal, la función de soporte de las neuronas; intervienen activamente, además, en el procesamiento cerebral de la información

Gluconeogénesis. Es una reacción anabólica. Es la vía que permite la síntesis de glucosa a partir de precursores no glucídicos (los cuales ni provienen, ni son glucosa). Permite ver la regulación de las vías metabólicas. Es necesaria porque, aunque muchos tejidos de los animales no necesitan glucosa, otros son completamente glucosadependientes (cerebro, eritrocitos, médula renal)

Glucosa. Molécula carbohidrogenada de fórmula $C_6H_{12}O_6$, la cual está formada por una aldohexosa (aldehído pentahidroxilado) y es un monosacárido. La glucosa es el compuesto orgánico más abundante de la naturaleza. Es la fuente principal de energía de las células, mediante la degradación catabólica y es el componente principal de polímeros de importancia estructural como la celulosa y de polímeros de almacenamiento energético como el almidón

GLP-1 (glucagon-like peptide-1 en inglés). Es una hormona con carácter de incretina antidiabética con potencial terapéutico, que ayuda a regular la homeostasis de la glucosa, y que está siendo considerada para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo II por su acción insulínica y también insulínica

GLUT5. Es un transportador de fructosa expresado en la membrana apical de enterocitos en el intestino delgado. GLUT5 permite a la fructosa ser transportada desde el lumen intestinal al enterocito por difusión facilitada debido a la alta concentración de fructosa en el lumen intestinal

GOx. Enzima glucosa oxidasa

Grelina. La grelina es un péptido descubierto en 1999, que es importante por tener un efecto estimulante sobre la hormona del crecimiento, conocida como la “hormona del apetito”. Se segrega en el estómago y, en menor cantidad, en la primera porción del duodeno, desde donde se libera a la sangre. Su concentración varía según determinados patrones, aumentando sus niveles con el apetito y disminuyendo con la saciedad

GSIS. Secreción de insulina estimulada por glucosa

GTP. Guanosina 5'-trifosfato es un nucleótido cuya base nitrogenada es la purina guanina, su función es similar a la del ATP, dado que también es utilizado como moneda energética. Además es el precursor de la base guanina en la síntesis de ADN en su replicación

HDL. Lipoproteínas de alta densidad, por sus siglas en inglés

Hepatocito. Tipo de célula presente en el tejido parenquimatoso hepático

Hidratos de carbono (carbohidratos). Cada una de las sustancias orgánicas formadas por carbono, hidrógeno y oxígeno, que contienen los dos últimos elementos en la misma proporción que la existente en el agua; p. ej., la glucosa, el almidón y la celulosa. Coloquialmente se les conoce como carbohidratos, un anglicismo derivado de *carbohydrates*

Hidrólisis. Es una reacción química de ruptura o separación que se da entre el agua con una sustancia orgánica o inorgánica. Entre las sustancias que pueden sufrir esta reacción se encuentran numerosas sales que, al ser disueltas en agua, combinan sus iones constituyentes con los OH⁻ procedentes de la disociación del agua

Hipertensión. Es una condición médica caracterizada por un incremento continuo de las cifras de presión arterial por encima de 139/89 mmHg y considerada uno de los problemas más importantes de salud pública en países desarrollados, afectando a cerca de mil millones de personas a nivel mundial. La hipertensión es una enfermedad asintomática y fácil de detectar; sin embargo, lleva a complicaciones graves y letales si no se trata a tiempo

Histología. Parte de la anatomía que trata del estudio de los tejidos orgánicos

Histopatología. Palabra que no existe en el diccionario de la lengua española de la Real Academia Española pero que viene de patología, conjunto de síntomas de una enfermedad, aplicado a los tejidos orgánicos

Homeostasis. Autorregulación de un sistema biológico en equilibrio, por ejemplo, alguna hormona o sustancia química que tiene una acción específica en la regulación de la actividad de algún tejido

IARC. Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer

ID. Ingesta diaria

IDA. Ver Ingesta diaria admisible

IDE. Ingesta diaria experimental

IG (Índice glucémico). Es un sistema de clasificación de hidratos de carbono basado en su efecto inmediato en los niveles de glucosa en la sangre. Esta escala compara los hidratos de carbono gramo a gramo en comidas individuales, proporcionando un índice numérico respaldado por pruebas de glucemia posterior a la comida

IMC. Índice de masa corporal

IMSS. Instituto Mexicano del Seguro Social

Infarto. Se denomina infarto a la necrosis isquémica de un órgano (muerte de un tejido), generalmente por obstrucción de las arterias que lo irrigan, ya sea por elementos dentro de la luz del vaso, por ejemplo placas de ateroma o por elementos externos (tumores que comprimen el vaso, torsión de un órgano, hernia de un órgano a través de un orificio natural o patológico, etc. En el uso coloquial, cuando se menciona la palabra "infarto" sin mencionar a qué órgano se refiere, se trata de un infarto agudo al miocardio

Ingesta diaria admisible (IDA). Cantidad aceptada como inocua internacionalmente de alguna sustancia química (*ADI*, por sus siglas en inglés, *Acceptable Daily Intake*)

Ingesta diaria de edulcorante (IDE). Cantidad ingerida por los especímenes diariamente a lo largo de todo el experimento

Insulina. Es una hormona polipeptídica formada por 51 aminoácidos. Esta hormona es segregada por las células beta de los grupos de Langerhans del páncreas, interviene en el

aprovechamiento metabólico de los nutrientes, sobre todo con el anabolismo de los hidratos de carbono

Insulinemia. Presencia de insulina en la sangre

JACF (Jarabe con alto contenido de fructosa). Los jarabes de maíz de alta fructosa son edulcorantes obtenidos por medio de la conversión química y/o enzimática del almidón para producir glucosa y seguido de un proceso de isomerización para transformar la glucosa en fructosa

Jarabe concentrado de maíz. Edulcorante producido por diferentes procesos químicos y/o biotecnológicos a partir de los almidones del grano de maíz (*HFCS*, por sus siglas en inglés, *high fructose corn syrup*)

JECFA. Del inglés *Joint Experts Committee on Food Additives*, Comité Mixto *FAO/OMS* de Expertos en Aditivos Alimentarios

Jaula metabólica. Son aquéllas que permiten la recolección de orina y heces de manera separada con objeto de realizar exámenes clínicos en ellos

Lactosa. Es un disacárido formado por la unión de una molécula de glucosa y otra de galactosa

Leptina. Es una hormona compuesta por 167 aminoácidos producida en su mayoría por los adipocitos (células grasas). Cuando la cantidad de grasa almacenada en los adipocitos aumenta, se libera leptina en el flujo sanguíneo, lo que constituye una señal (retroalimentación negativa) que informa al hipotálamo de que el cuerpo tiene bastante comida y que debe inhibir el apetito

LDL, LDLc. Siglas en inglés para lipoproteínas de baja densidad, captación

Lípidos o grasas. Son la fuente de energía de largo plazo para los seres vivos. Químicamente son productos que contienen ácidos grasos, que pueden ser saturados o insaturados, lo que tiene importante efecto en la salud. Pueden ser sólidos (como la mantequilla, el queso, etc.) o líquidos como el aceite vegetal

LSD. Mínimas diferencias significativas por sus siglas en inglés (*least square difference*). Es la diferencia entre dos medias, basada en la prueba *t* de Student, empleando el valor de la varianza del error. El valor de la DMS o *LSD* se encuentra referido a la distribución de *t*

Metabolismo. Etimológicamente, el origen de la palabra metabolismo procede del griego *metabolé* que significa “cambio”, “transformación”. El metabolismo es el conjunto de reacciones bioquímicas común en todos los seres vivos, que ocurren en las células, para la obtención e intercambio de materia y energía con el medio ambiente y síntesis de macromoléculas a partir de compuestos sencillos con el objetivo de mantener los procesos vitales

Metabolismo basal. El metabolismo basal es el gasto energético mínimo necesario para el desarrollo de la vida. Depende de varios factores, como sexo, talla, masa, edad, etc. Como claro ejemplo del metabolismo basal se encuentra el caso del coma

Microalbuminuria, MA. Se define como las elevaciones persistentes de albúmina en la orina entre 30 y 300 mg/día (20 a 200 µg/min). Estos valores son menores a aquellos detectados con las tiras reactivas para la detección de proteína en orina, lo cual no resulta positivo hasta que la excreción de proteína excede los 300 a 500 mg/día. Sin embargo, una nueva generación de tiras reactivas para orina desarrolladas específicamente para detectar MA pueden detectar ahora niveles de concentración al, o por debajo del, nivel definido de 30 mg/día que, con el gasto urinario normal, corresponde a unas concentraciones de albúmina de 15 a 20 mg/L

Mitocondria. Son los organelos celulares que se encuentran en prácticamente todas las células eucariotas, encargados de suministrar la mayor parte de la energía necesaria para la actividad celular; actúan, por tanto, como centrales energéticas de la célula y sintetizan ATP por el ciclo del ácido cítrico (conocido como ciclo de Krebs) y la cadena de transportadores electrónicos

Monosacárido. Los monosacáridos son los glúcidos más simples, conteniendo de tres a siete átomos de carbono. Su fórmula empírica es $(CH_2O)_n$ donde $n \geq 3$. El átomo de carbono restante tiene unido un grupo carbonilo (C=O). Si este grupo carbonilo se encuentra en el extremo de la cadena se trata de un grupo aldehído (-CHO) y el monosacárido recibe el nombre de aldosa. Si el carbono carbonílico se encuentra en cualquier otra posición, se trata de una cetona (-CO) y el monosacárido recibe el nombre de cetosa

NADPH (Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato). Es una coenzima que contiene nicotinamida y funciona como transportador de átomos de hidrógeno y electrones en algunas reacciones de óxido-reducción

NOEL. Nivel sin efecto observable por sus siglas en inglés. Es la dosis más elevada de una sustancia que no ha mostrado en las pruebas tener efectos perjudiciales para la salud en personas o animales

NPY/PRAg. Neuropeptido Y (NPY). El neuropeptido Y es un neurotransmisor de 36 aminoácidos localizado y sintetizado en el hipotálamo. Este péptido estimula poderosamente la ingesta de nutrientes, particularmente los de alto contenido energético, ricos en hidratos de carbono y grasas. La proteína similar AgRP (*PRAg* en inglés) se sintetiza en el sistema nervioso central, SNC. Su sobre-expresión provoca obesidad y se encuentra inhibida por el ayuno

NTP (en inglés). Programa Nacional de Toxicología de EEUU

Nutrición. Es el proceso biológico en el que los organismos asimilan y utilizan los nutrimentos y los líquidos para el funcionamiento, el crecimiento y el mantenimiento de las funciones normales. La nutrición también es el estudio de la relación entre los alimentos y los líquidos con la salud y la enfermedad, especialmente en la determinación de una dieta óptima

Obesidad. La obesidad es un exceso de grasa en el cuerpo que frecuentemente condiciona una alteración del estado de la salud. Es un factor de riesgo conocido para enfermedades crónicas como: enfermedades cardíacas, diabetes, hipertensión arterial y algunas formas de cáncer. La evidencia sugiere que se trata de una enfermedad con origen multifactorial: genético, ambiental y psicológico, entre otros

OECD. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) es una organización de cooperación internacional, compuesta por 34 estados, cuyo objetivo es coordinar sus políticas económicas y sociales

ONU. Organización de las Naciones Unidas. Es una asociación de gobierno global que facilita la cooperación en asuntos como el derecho internacional, la paz y seguridad internacional, el desarrollo económico y social, los asuntos humanitarios y los derechos humanos

Organización Mundial de la Salud (OMS). Es el organismo de la Organización de las Naciones Unidas (ONU) especializado en salud, fue creado el 7 de abril de 1948, como institución dependiente de la ONU. La Organización Mundial de la Salud publica una lista de las enfermedades conocida como clasificación internacional de las enfermedades y de los problemas de salud relacionados (*ICD*, por sus siglas en inglés, *International Classification of Diseases*)

Órgano. Conjunto de tejidos que realizan alguna función (como el corazón, el hígado, el páncreas, etcétera). Un orgánulo u organelo es una estructura sub-celular análoga. Los órganos se agrupan según su función en sistemas (circulatorio, respiratorio, reproductor, etc.)

PA. Presión arterial. La presión arterial (PA) o tensión arterial (TA) es la presión que ejerce la sangre contra la pared de las arterias

Páncreas. Es una glándula, tanto exocrina como endocrina, lobulada, órgano retroperitoneal situado detrás de la parte inferior del estómago; es del tamaño de la mano, alargado, de forma cónica. Segrega insulina, glucagón, polipéptido pancreático y somatostatina para regular la cantidad de glucosa en sangre. También produce enzimas que ayudan a la digestión de los alimentos

Patología. La patología es el estudio de las enfermedades. La nosología es la parte de la medicina que se dedica a la clasificación sistemática de las enfermedades

Parámetros físicos. Son, para el agua, los que definen aquellas características del agua que responden a los sentidos del tacto, gusto, olfato o vista

Pb. Par de bases

PE. Potencial edulcorante

Piranosa. Estructura química que contiene 6 átomos de carbono

Piruvato cinasa. Cataliza la segunda fosforilación a nivel de sustrato en la glucólisis, en la cual hay formación de ATP mediante la hidrólisis del enlace fosfato de alta energía en el FOSFOENOLPIRUVATO para formar piruvato, que es un metabolito de cruce que posteriormente es utilizado para múltiples fines

PKU. Ver Fenilcetonuria

POD. Enzima peroxidada

Politrón. Es un homogenizador de laboratorio para tejidos, con un cilindro que al final lleva un espacio vacío con cuchillas.

Poder edulcorante. Es la capacidad de una sustancia para causar la sensación de dulzor. Dicha sensación se mide subjetivamente tomando como base de comparación la sacarosa, a la que se

le da un valor arbitrario de 1 o de 100. Es decir, si un compuesto tiene un poder edulcorante de 2 (1 para la sacarosa), indica que es 100% más dulce que el disacárido

Primer. Es una hebra de ácido nucleico que sirve como un punto de partida para la síntesis de ADN. Se requieren para la replicación del ADN debido a que las enzimas que catalizan este proceso, ADN polimerasas, sólo se pueden añadir nuevos nucleótidos a una cadena existente de ADN. La polimerasa inicia la replicación en el extremo 3' del cebador, y copia la cadena opuesta

Proceso enzimático o “fermentativo”¹. Se refiere a la degradación de sustancias orgánicas por la acción de enzimas microbianas, acompañadas con frecuencia de desprendimientos gaseosos

Proteinuria. Término que implica la existencia de *proteínas en la orina* en una cantidad elevada. Es un dato fundamental en el enfoque diagnóstico inicial de una *hematuria* ya que junto a ésta, permiten determinar la existencia de enfermedades renales

Quilomicrones. Son lipoproteínas sintetizadas en el epitelio del intestino caracterizadas por poseer baja densidad. Tienen un diámetro de 100-500 nm y densidad menor de 0.940, por lo que tienden a formar un sobrenadante en el plasma al dejarlo en reposo. Están constituidos en un 80% por triglicéridos, la mayor parte de origen dietario

Reacción química. Proceso en el que una o más sustancias se transforman en otras sustancias diferentes a los reactivos originales puestos a reaccionar

Sacarina. Es un edulcorante artificial 300 veces más dulce que el azúcar. Tiene un regusto un poco amargo

Sacarosa. Su nombre común es azúcar. Proviene de la caña de azúcar y de la remolacha, así como de algunas frutas y de la miel. Formada por la unión de una molécula de glucosa y una de fructosa. Es disacárido y es no reductor a diferencia de los demás mono y disacáridos que son reductores. La fórmula empírica de este disacárido es $C_{12}H_{22}O_{11}$

Salud pública. La salud pública es la ciencia y el arte de organizar y de dirigir los esfuerzos colectivos destinados a proteger, promover y restaurar la salud de los habitantes de una comunidad. La salud pública es responsabilidad de los gobiernos, a quienes corresponde la organización de todas las actividades comunitarias que directa o indirectamente contribuyen a la salud de la población

Sarcosil. Es una solución amortiguadora de sal de sodio de fórmula química $C_{15}H_{28}NNAO_3$

SCF. Siglas en inglés para el Comité Científico en Alimentación de la Unión Europea, actualmente denominado Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria

Sedentarismo. Forma de vida en la que una sociedad humana permanece en un lugar fijo para su desarrollo basándose en métodos como la agricultura o el comercio para sustentarse. También se le asocia la palabra sedentarismo al modo de vida con poca actividad física, lo cual ocasiona una serie de enfermedades

Síndrome metabólico. Se denomina síndrome metabólico al conjunto de alteraciones metabólicas constituido por la obesidad de distribución central, la disminución de las concentraciones del colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (*HDL*, por sus siglas en inglés, *high density lipoproteins*), la elevación de las concentraciones de triglicéridos, el aumento de la presión arterial (PA) y la hiperglucemia

SNC. Sistema nervioso central

SREBP (en inglés Sterol-Regulatory Element Binding Proteins), SREBP1, SREBP1a, SREBP1c. Es un factor de transcripción donde se unen al esteroles proteínas como elementos reguladores del ADN requerido para la transcripción activa de genes que codifican el receptor de lipoproteínas de baja densidad y las enzimas en la síntesis de colesterol

Sólidos orgánicos. En general son de origen animal o vegetal, que incluyen los productos de desecho de la vida animal y vegetal, la materia animal muerta, organismos o tejidos vegetales, pero también pueden incluirse compuestos orgánicos sintéticos

Sustrato. Es el término empleado para indicar la materia orgánica o los nutrientes que pueden sufrir una conversión y que pueden ser un factor limitante en la conversión química o bioquímica

Sucralosa. Es el único edulcorante de alta intensidad que está hecho a partir de azúcar al clorar la molécula y sustituir hidrógenos por cloros. Su sabor es similar al de la sacarosa pero su dulzor

¹ Louis Pasteur definió el término fermentación exclusivamente para la transformación bioquímica de la glucosa a etanol y CO_2 por parte de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Ninguna otra reacción bioquímica es una fermentación verdadera. Desafortunadamente, muchos textos equivocadamente lo usan para cualquier biorreacción

es aproximadamente 600 veces mayor. El efecto de esos átomos de cloro en la salud no se conoce todavía

SYBR. Marcadores para la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, *PCR*, en inglés

SYBR Green. Otro marcador para la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, *PCR*, en inglés

Tejido. Por tejido se entiende cada uno de los diversos agregados de células de la misma naturaleza, diferenciadas de un modo determinado, ordenadas regularmente, con un comportamiento fisiológico común. Un tejido puede estar constituido por células de una sola clase, todas iguales, o por varios tipos de células ordenadamente dispuestas. En todo caso las células que forman juntas un tejido tienen un origen común

Tejido adiposo (adipocitos). Elemento celular que tiene como característica acumulación y fusión de pequeñas gotas de grasa dentro del citoplasma. El tejido adiposo cumple funciones estructurales y una de ellas es servir como amortiguador, protegiendo y manteniendo en su lugar los órganos internos así como a otras estructuras más externas del cuerpo. Existen dos tipos de tejido adiposo, el tejido adiposo blanco (o unilocular) y el pardo o marrón (o multilocular)

TG (Triglicéridos). Es el nombre que se le da a las grasas saturadas en los análisis clínicos

Tránsito. Es una molécula de ARN y es el resultado de la transcripción llamada así ya que para que la información genética almacenada en el ADN sea utilizada por los organismos, se requiere que sean sintetizadas cadenas de ARN complementarias al ADN por medio de un proceso conocido como transcripción (de “trans”= pasar de uno a otro y “scribere”=escribir en este caso de una escritura a otra)

Tubos tipo falcón. Es un tubo cónico que es utilizado en la centrífuga, Falcón es una marca de tubos para centrífuga hechos de poliestireno

Urea en sangre. Es el resultado final del metabolismo de las proteínas; se forma en el hígado después de la destrucción de las proteínas. Durante la digestión las proteínas son separadas en aminoácidos, estos contienen nitrógeno que se libera como ion amonio y el resto de la molécula se utiliza para generar energía en las células y tejidos. El amonio se une a pequeñas moléculas para producir urea, la cual aparece en la sangre y es eliminada por la orina; si el riñón no funciona bien se acumula en la sangre y eleva su concentración

VLDL (siglas en inglés *very low-density lipoprotein*). Lipoproteínas de muy baja densidad. Son complejos macromoleculares sintetizados por el hígado que transportan triglicéridos, ésteres de colesterol y fosfolípidos, principalmente, hacia los tejidos extrahepáticos. Se caracterizan por tener una baja densidad, se compone principalmente de lípidos, en un 90%, y un 10% de proteínas específicas. Son las precursoras de las *LDL*

Yeyuno. Parte del intestino delgado, entre el duodeno y el íleon. Su función es realizar la absorción de las sustancias del quimo alimenticio. En este trozo de intestino delgado actúa el jugo intestinal, que degrada al mínimo los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos. La pared del yeyuno presenta las vellosidades intestinales, cuya función es traspasar al torrente sanguíneo las sustancias anteriormente señaladas

Nota: Esta tesis usa el punto decimal (DOF, 2009)

RESUMEN

La obesidad es una enfermedad crónica de etiología multifactorial que se desarrolla a partir de la interacción de la influencia de factores sociales, conductuales, psicológicos, metabólicos, celulares y moleculares. En términos generales, se define como el exceso de grasa (tejido adiposo) en relación con la masa corporal. Como se ha visto de los resultados de encuestas y estadísticas, en los últimos años se ha incrementado la obesidad en México, siendo ya el primer país a nivel mundial de obesidad. Esto tiene como consecuencia el aumento de enfermedades crónicas – degenerativas (problemas cardíacos, diabetes mellitus tipo II, etc., englobadas todas en el síndrome metabólico). Aunado a esto está el aumento en el consumo de comida rápida, rica en grasas y en hidratos de carbono, junto con la vida sedentaria que se tiene. También se ha observado un aumento en el consumo *per capita* de bebidas carbonatadas (refrescos), entre ellos los del tipo “light” (ligero en inglés) debido a la falta de disponibilidad de agua potable. Mucho se ha dicho acerca de que elevadas dosis de estos edulcorantes artificiales podrían producir efectos nocivos sobre la salud a largo plazo. En este proyecto de investigación se plantea evaluar la ganancia en masa corporal con respecto de la ingestión crónica de edulcorantes energéticos e hipoenérgicos adicionados al agua potable con objeto de simular lo que ocurre al ingerir bebidas carbonatadas. Para ello se empleó un animal modelo de laboratorio. En esta investigación se emplearon dos edulcorantes energéticos (sacarosa y fructosa) y cinco edulcorantes hipoenérgicos (acesulfame de potasio, aspartame, sacarina, sucralosa y la mezcla de la sal de acesulfame de potasio y de aspartame). Se emplearon 120 especímenes (ratas macho recién destetadas de la cepa Wistar). Los edulcorantes se adicionaron al agua potable con las siguientes proporciones, tomando en cuenta las que tienen estos productos en el mercado: Fructosa, 7%; sacarosa, 10%; aspartame, 0.3%; sucralosa, 0.19%; acesulfame de K, 0.015%; mezcla de sal de acesulfame de K, 0.04% y aspartame, 0.04% y, finalmente, sacarina, 0.3%. Se adicionó un octavo lote como grupo control con agua potable sin edulcorantes. Cada lote tenía 15 especímenes. Se hizo el registro diario de la masa corporal, de la ingesta de alimento y del consumo de cada edulcorante en solución. Se realizó un análisis estadístico comparativo de cada intergrupo e intragrupo. El experimento se dividió en tres etapas, de acuerdo con el tiempo de experimentación (3, 6, 9 meses, respectivamente, en forma genérica). Se llevó a cabo la eutanasia indolora después de cada etapa de un tercio de los animales. Se recuperó la sangre para estudios complementarios a esta investigación, donde se midieron las concentraciones de colesterol, triglicéridos, glucosa e insulina. En esta investigación se realizó un estudio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, en inglés, por *polymerase chain reaction*) para determinar la expresión de los genes *ChREBP*, por sus siglas en inglés, para proteína ligante con elementos de respuesta a hidratos de carbono, *SREBP1*, en inglés *Sterol-Regulatory Element Binding Protein*, un factor de transcripción que se une al esteroide del elemento regulador del ADN, requerido para la transcripción activa de genes que codifican el receptor de lipoproteínas de baja densidad y las enzimas en la síntesis de colesterol y la enzima piruvato cinasa en los laboratorios del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” de México. Se extrajeron también algunos órganos (hígado, corazón, riñón derecho, riñón izquierdo, páncreas y tejido retroperitoneal), para realizar pruebas histológicas en cortes de tejido teñidos con hematoxilina-eosina, determinando la vacuolización citoplasmática en hígado, VC, la celularidad glomerular, CG y la membrana basal, MB, en riñón, el tamaño y área de glóbulos de grasa en el tejido pericárdico, diámetro adipocitario, DA, en tejido retroperitoneal e islotes pancreáticos en el páncreas, que se llevaron a cabo en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, en su Departamento de Patología. De acuerdo con los resultados obtenidos, las ganancias en masa corporal tuvieron la siguiente tendencia: Lote de mezcla > fructosa > sacarina > control > aspartame > acesulfame de potasio > sacarosa (azúcar) > sucralosa, encontrando una diferencia estadísticamente significativa para los 8 grupos durante los primeros 3 meses, ya que las ratas se encuentran en su etapa de crecimiento exponencial. Para los 6 y 9 meses no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, ya que estos animales se encuentran en una etapa de madurez. Dentro de los hallazgos destaca el volumen ingerido de agua de los especímenes de los diferentes lotes. Los lotes de ratas que ingirieron agua con sacarosa y agua con fructosa (edulcorantes energéticos) lo hicieron en forma continua y en altas cantidades desde el inicio del experimento. Los lotes del grupo control y de los edulcorantes hipoenérgicos (aspartame, acesulfame de K, sacarina, sucralosa y mezcla de la sal de acesulfame de K y aspartame) aunque fueron también consumidos desde el inicio del experimento en forma continua, su volumen era menor que el de los

edulcorantes energéticos (alrededor de 40 mL/d versus 90-110 mL/d). Se atribuye esta diferencia a que este tipo de edulcorantes no son del agrado de los animales y toman solamente lo que requieren para sus procesos metabólicos. También destaca el consumo diario de alimento, ya que se pudo apreciar que los especímenes de los lotes que consumieron los edulcorantes hipoenergéticos son los que presentan una ingesta similar a la del lote control (55-82 versus 63-72 kcal/d). Por otro lado, los animales modelo de los lotes que ingerían edulcorantes energéticos consumían, en promedio, menores cantidades de alimento para completar su requerimientos energéticos, ya que empleaban el edulcorante como complemento (fructosa, 58-72 kcal/d y sacarosa, 67-83 kcal/d). Lo interesante es que los especímenes que ingirieron sacarosa siempre tuvieron una masa corporal menor a pesar de que su ingesta calórica era similar a la de los otros grupos. Respecto de los parámetros bioquímicos, triglicéridos, colesterol, glucosa e insulina, puede decirse que ningún grupo excedió los límites máximos permisibles para estos roedores ni hubo diferencias significativas entre ellos. Del estudio sobre la expresión de los genes, el *SREBP-1* que está involucrado en la síntesis de ácidos grasos (colesterol, triglicéridos y tejido adiposo), se encontró que los grupos de la mezcla de acesulfame de K y aspartame o mezcla, el de acesulfame de K y el de sucralosa provocan una expresión de estos genes, lo cual resulta interesante, especialmente siendo estos edulcorantes hipoenergéticos. El gen *ChREBP*, que está relacionado con la síntesis de hidratos de carbono, se expresa mayormente con los grupos de la mezcla acesulfame de K y aspartame, de sacarosa y de aspartame, lo cual también deberá ser estudiado con mayor detalle y en forma exhaustiva ya que se hubiera esperado que solamente se expresara con la sacarosa (no con la fructosa porque sigue un mecanismo metabólico diferente). Finalmente, de los hallazgos microscópicos en los tejidos del hígado, riñón y retroperitoneo puede decirse que los adipocitos en esos tejidos, para los primeros 3 meses, presentan una vacuolización ligera; para los especímenes sacrificados a los 6 meses, los lotes de aspartame, sacarina, sucralosa y sacarosa presentan una vacuolización moderada. Finalmente, para los animales modelos sacrificados a los 9 meses, el control, la mezcla de acesulfame de K y aspartame y la fructosa presentan una vacuolización de moderada a grave, esto es, aumentó el tamaño de los depósitos de grasa dentro de las células de los tejidos de los órganos en estudio. Para el tejido pericárdico no se ven depósitos de grasa anormales dentro de las células. Para el caso del riñón, el filtro más importante en el cuerpo, los grupos control y de sucralosa para las tres fases, 3, 6, y 9 meses, presentaron una celularidad glomerular y una membrana basal moderada mientras que en los demás grupos es leve. Esto significa que se van paulatinamente cerrando los canales para la filtración de la orina. Para los 9 meses, los especímenes del grupo control presentan una celularidad glomerular moderada y el resto es leve. Para el tamaño del glóbulo de grasa en el tejido retroperitoneal, a los 3 y 6 meses los especímenes del lote de fructosa son los que presentan un mayor tamaño de los adipocitos y, para los 9 meses, es el grupo control. Se recomienda continuar los estudios planteando un experimento a corto plazo con ratas de 150 g de masa corporal para estudiar los péptidos GLP-1 y GIP, además de los parámetros bioquímicos y la expresión de los dos genes señalados arriba para corroborar los efectos de estos edulcorantes. Asimismo, se recomienda realizar otro estudio a largo plazo, esta vez hasta las 85-97 semanas con ratas macho y hembra con objeto de evaluar los efectos a largo plazo en ambos sexos y el efecto de la ingestión crónica al llegar los animales a su climaterio.

Palabras clave: Ingestión crónica de edulcorantes, fructosa, sacarosa, acesulfame de potasio, aspartame, sacarina, sucralosa, mezcla de acesulfame de K y aspartame, modelo animal, ganancia de masa corporal

CAPÍTULO 1

PROBLEMÁTICA

1.1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha dado un auge importante en la producción de alimentos endulzados con edulcorantes distintos a la sacarosa o azúcar de mesa que, por aportar menos energía, son utilizados ya sea para perder masa corporal o para mantener una masa saludable, o bien, para ofrecer opciones alimenticias a individuos que padecen de diabetes o intolerancia a la glucosa. Siendo la obesidad una enfermedad crónica de etiología multifactorial que se desarrolla a partir de la interacción de la influencia de factores sociales, conductuales, psicológicos, metabólicos, celulares y moleculares, en términos generales, se define como el exceso de grasa (tejido adiposo) en relación con la masa corporal (erróneamente conocida como peso²). Se observa un incremento en la obesidad a nivel mundial, así como un aumento de las enfermedades degenerativas del tipo de la diabetes tipo 2, los problemas cardiovasculares y la concentración en los niveles de triglicéridos y colesterol entre otros (Bárceñas-Ochoa, 2008). Como epidemia, el sobrepeso y la obesidad no son solamente un efecto de malos hábitos individuales, sino el resultado de un entorno que promueve el consumo de alimentos y bebidas altamente procesados y que se ha catalogado como “ambiente obesigénico” (Kauffer – Horwitz y col., 2000).

Entre los principales elementos que conforman el ambiente obesigénico se encuentran: la omnipresente publicidad de productos con altos contenidos de hidratos de carbono y grasas, en especial, dirigida a la infancia; el etiquetado confuso y desorientador de los nutrimentos; la falta absoluta de educación y orientación nutricional entre la población; el predominio de la comida procesada industrialmente en las escuelas y centros de trabajo o si estos no ofrecen opciones a los trabajadores, los puestos ambulantes aledaños; el abandono del suministro de agua potable en bebederos de escuelas y lugares públicos, reemplazado por la oferta de bebidas endulzadas y la reducción generalizada de la actividad física. En

² El **peso**, en física, es la medida de la fuerza que ejerce la gravedad sobre la masa de un cuerpo. Normalmente, se considera respecto de la fuerza de gravedad terrestre. El peso depende de la intensidad del campo gravitatorio, de la posición relativa de los cuerpos y de la masa de los mismos. La **masa** es una propiedad característica de los cuerpos: la cantidad de materia, y no depende de la intensidad del campo gravitatorio, ni de su posición en el espacio. Por ejemplo, una persona de 60 kg de **masa**, pesa 60 **kg-fuerza** en la superficie de la Tierra; pero, la misma persona, en la superficie de la Luna pesaría sólo unos 10 kg-fuerza; sin embargo, su masa seguirá siendo de 60 kg. Las unidades de **peso** y **masa** tienen una larga historia compartida, en parte porque su diferencia no fue bien entendida cuando dichas unidades comenzaron a utilizarse. Cotidianamente, el término "peso" se utiliza a menudo *erróneamente* como sinónimo de masa. La unidad de masa del SI es el kilogramo, kg

México, el 70% de la población adulta sufre sobrepeso y obesidad (Kauffer – Horwitz y col., 2000). Además, en los últimos 7 años (1999-2006) entre los niños de 5 a 11 años aumentó 40% este problema, mientras que la cintura promedio de las mujeres en edad fértil creció 10 centímetros en ese periodo (Calvillo y col., 2007).

Los edulcorantes son aditivos que se utilizan para dar gusto dulce a los alimentos y bebidas. Actualmente, este tipo de aditivos se está utilizando en forma indiscriminada, sabiendo que son clasificados como tipo “GRAS” (*Generally recognized as safe*, por sus siglas en inglés).

El problema de la obesidad, en donde México ya ocupa el primer lugar a nivel mundial, ha llevado a una búsqueda del posible efecto de los edulcorantes, energéticos e hipoenergéticos que se han estado ingiriendo desde aproximadamente 40 años en forma masiva (González-Filomeno, 2006).

1.2. HIPÓTESIS

Si las ratas ingieren diferentes edulcorantes, energéticos e hipoenergéticos, como son el acesulfame de potasio, el aspartame, la sacarina, la sucralosa, la mezcla de aspartame - acesulfame de potasio, la fructosa y la sacarosa “*ad libitum*”, de manera crónica en el agua de beber, se observará un incremento de su tejido adiposo o masa corporal, así como la presencia de grasa en los órganos internos de estos animales, que será atribuible al consumo de estos edulcorantes.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Comprobar el efecto de la ingesta crónica de edulcorantes energéticos e hipoenergéticos en un animal modelo (ratas macho de la cepa “Wistar”) en la ganancia en masa corporal por medio del estudio de consumo de estos edulcorantes “*ad libitum*” al adicionarlos al agua para beber manteniendo la composición de las dietas equilibradas constante y permitiendo su consumo “*ad libitum*”.

1.3.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Suministrar a los lotes de ratas una misma dieta (isoenergética e isoproteica) *ad libitum*, así como los diferentes edulcorantes en estudio disueltos en el agua potable *ad libitum* (sacarosa, fructosa, acesulfame de potasio, aspartame, sacarina, sucralosa y, finalmente, la mezcla aspartame - acesulfame de potasio) usando agua potable como control evaluando su efecto en la ganancia en masa corporal.
- Evaluar las diferencias entre los órganos internos en estudio (hígado, corazón, riñón, páncreas y tejido retroperitoneal, respectivamente) con respecto de la masa corporal de cada espécimen.
- Realizar, con el apoyo académico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, estudios histológicos en los tejidos de esos órganos.
- Evaluar las diferencias entre los contenidos de glucosa e insulina en suero sanguíneo con respecto de la masa corporal de cada espécimen, en los Laboratorios de Fisiología de la Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” de México.
- Evaluar las diferencias entre los contenidos de triglicéridos y colesterol en suero sanguíneo con respecto de la masa corporal de cada espécimen, en los Laboratorios de Fisiología de la Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” de México.
- Evaluar la reacción en cadena de la polimerasa (*PCR*, en inglés, por *polymerase chain reaction*) determinando la expresión de los genes SREBP1 y CHREBP, presentes en tejido hepático, en los Laboratorios de Fisiología de la Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” de México.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTOS

2.1. OBESIDAD Y SOBREPESO: DAÑOS A LA SALUD

La obesidad es una enfermedad crónica de etiología multifactorial que se desarrolla a partir de la interacción de la influencia de factores sociales, conductuales, psicológicos, metabólicos, celulares y moleculares. En términos generales, se define como el exceso de grasa (tejido adiposo) en relación con la masa corporal (Kauffer- Horwitz y col., 2000). La obesidad es el resultado de un desequilibrio entre la ingestión y el gasto energético. Este desequilibrio es frecuentemente consecuencia de la ingestión de dietas con alta densidad energética y bajas en fibra, y de bebidas endulzadas, en combinación con una escasa actividad física. Esta última se ha asociado a la urbanización, al crecimiento económico y a los cambios en la tecnología para la producción de bienes y servicios, así como a los estilos de vida y de recreación. Dentro de los estilos de vida poco saludables destacan la mala nutrición (alto consumo de energía y grasas de origen animal, bajo consumo de frutas y vegetales), el sedentarismo y el consumo de sustancias adictivas, que han dado origen al surgimiento de riesgos emergentes como el sobrepeso y la obesidad, la hipercolesterolemia, la hipertensión arterial, el tabaquismo, el consumo excesivo de alcohol, el consumo de drogas ilegales, la violencia doméstica y las prácticas sexuales inseguras (ENSANUT, 2006). México destaca como el primer país en sobrepeso y obesidad a escala mundial, después de los Estados Unidos. De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 (ENSANUT, 2006), 39% de la población adulta sufre de sobrepeso y otro 30% de obesidad. La prevalencia de sobrepeso es más alta en hombres (42.5%) que en mujeres (37.4%), mientras que la prevalencia de obesidad es mayor en las mujeres (34.5%) que en los hombres (24.2%). Si se suman, estas prevalencias arrojan cifras de 71.9% de sobrepeso y obesidad en mujeres mayores de 20 años (24.9 millones de mujeres) y de 66.7% en hombres mayores de 20 años (16.2 millones de hombres). Las consecuencias en salud son muy diversas, por ejemplo, el incremento constante de la diabetes en un 3% anual para convertirse en la principal causa de muerte prematura, amputación de miembros y ceguera por enfermedad asociada. Otras consecuencias del sobrepeso y la obesidad son: dolencias cardiovasculares, hipertensión, derrames cerebrales, determinados tipos de cáncer, trastornos músculo esqueléticos, entre varios más (Calvillo y col., 2007). El incremento de sobrepeso y de obesidad en las sociedades modernas tuvo su comienzo hace aproximadamente 25 años. Actualmente, más de 20% de la población son clínicamente

obesos, definiendo obesidad como un índice de masa corporal (IMC) >30 kg/m², donde el índice se define como la masa dividida entre la talla al cuadrado (Bárcenas-Ochoa, 2008; Barquera y Olaiz, 2000). Aunque es un parámetro poco adecuado ya que no discrimina por edad, sexo, musculatura, grupo racial, etc., sirve de manera muy burda para definir las variaciones de masa corporal en las poblaciones. Adicionalmente, más de 30% tienen diagnóstico de sobrepeso, definido por un IMC >25 kg/m².

La Figura 2.1 muestra los datos obtenidos por la Encuesta Nacional de Salud realizada en México en el año 2006. La preocupación en torno a esta epidemia de obesidad se debe en parte a que bajo esta condición se incrementa el riesgo de mortalidad y de diversas patologías como son resistencia a la insulina, la diabetes tipo 2, la hipertensión, las enfermedades cardíacas coronarias, la enfermedad de la vesícula biliar y ciertos tipos de cáncer, entre otras (Bautista- Justo y col., 2005).

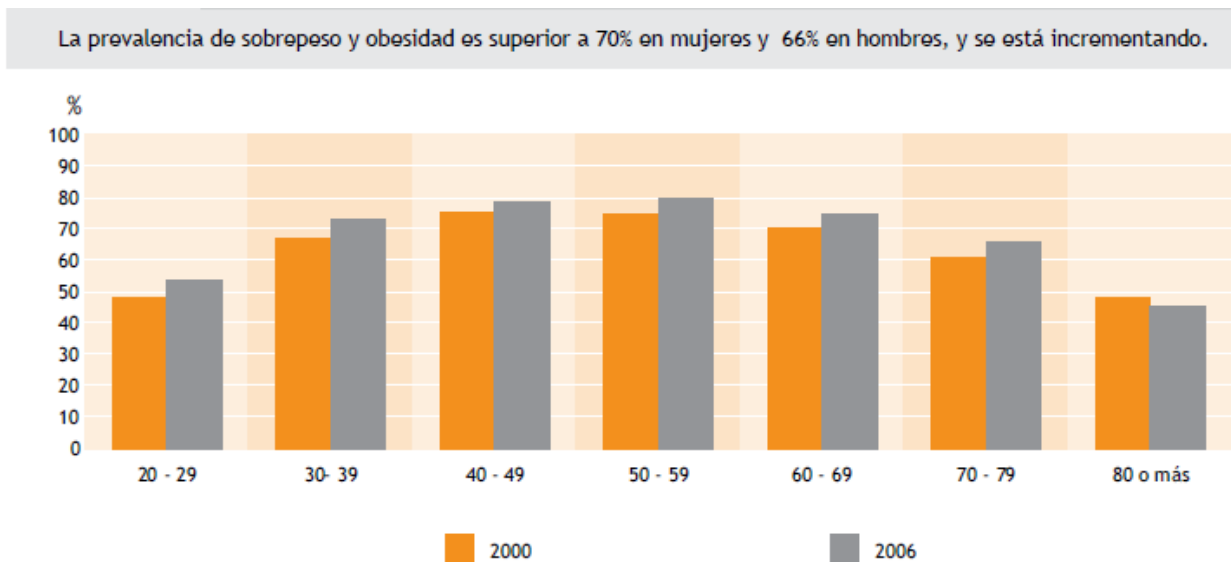


Figura 2.1. Datos de la encuesta realizada en México en el año 2006 (ENSANUT, 2000)

La situación de salud en México ha cambiado profundamente en las últimas dos décadas, a tal grado que las preocupaciones alrededor de la desnutrición se encuentran limitadas a grupos de la población específicos, en cambio, la obesidad se ha generalizado a los diversos grupos sociales, regiones y grupos de edad. La preocupación que suscita la excesiva ingestión, dado el bajo gasto energético, es el paradigma predominante que enfrenta el país. En relación con estas tendencias se encuentra el incremento de la mortalidad por diabetes mellitus tipo II, mayor que la registrada en la población de origen mexicano en Estados Unidos (Rivera y col., 2008).

En el mundo, México ocupa el segundo lugar en consumo de refrescos, nombre dado en este país a las bebidas gaseosas no alcohólicas, por habitante. Tan sólo Coca Cola realiza el 12% de sus ventas mundiales en nuestro país, a través de la mayor red que ninguna otra empresa o institución tiene en el país: 700 mil puntos de venta, en tiendas de abarrotes y pequeños comercios. Los refrescos se han convertido en la principal fuente de consumo de mieles de fructosa (apareciendo en la etiqueta como azúcares) y edulcorantes artificiales, cuando son producidos por empresas transnacionales, así como de azúcar cuando los fabricantes son mexicanos (ANPRAC, 2011).

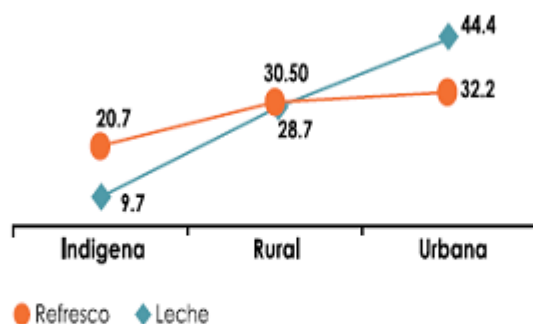
El consumo de refrescos creció 60% en solamente 14 años (1988-2002) en las familias de ingresos bajos. Entre las familias indígenas pasó a representar un gasto de 20 pesos a la semana, contra 10 pesos en leche. Para el año 2006, el 50% de la bebida ingerida durante las comidas fue de refrescos embotellados o de lata y solamente el 11% lo ocuparon las tradicionales aguas frescas, nombre dado en México a los preparados de agua potable hechos en casa con frutas frescas molidas o licuadas con un poco de azúcar o con el jugo de algunas de ellas, como el limón o la naranja (Figura 2.2). La falta de acceso al agua potable, que ha llevado a un incremento en el consumo de refrescos y bebidas embotelladas, se agudizó con la desaparición de los bebederos de agua potable en escuelas, parques y espacios públicos (ANPRAC, 2011; Calvillo y col., 2007).

En el año de 2007 cada mexicano consumió en promedio 160.1 litros de refrescos y aguas carbonatadas, un incremento de 1.4% comparado con los 157.9 litros consumidos en 2006. Este consumo *per capita* equivale a un consumo diario de 438 mililitros de refresco (de los cuales 416 mililitros están endulzados con edulcorantes energéticos y el resto con edulcorantes bajos en calorías) (ANPRAC, 2011).

El azúcar de caña y las mieles fructosadas contribuyen a incrementar significativamente la ingesta energética, principalmente en las bebidas (4 kcal/g y 3.75 kcal/g, respectivamente).

Aunque la relación entre los hidratos de carbono y la ganancia en masa corporal no es clara, la oxidación de los hidratos de carbono a expensas de la grasa, hace que al no utilizarse la grasa como sustrato energético, se almacene en el tejido adiposo (Jürgens y col., 2005; Laguna- Camacho, 2006).

Gasto familiar a la semana de leche y refresco (\$) por tipo de localidad



La gráfica elaborada por la Primera Evaluación del Programa de Desayunos Escolares muestra el gasto semanal de las familias indígenas, rurales y urbanas que tienen a sus hijos en escuelas públicas que reciben los desayunos escolares, es decir, de zonas de alta marginación. Una familia indígena gasta más del doble en refrescos que en leche.

Figura 2.2. Datos de la Primera Evaluación del Programa de Desayunos Escolares en México (ANPRAC, 2011; Calvillo y col., 2007)

Para el año del 2008 ANPRAC actualizó estos datos a la luz de la crisis económica que hizo que se redujeran un poco: Según esta Asociación, cada mexicano consumió en promedio 158.6 litros de refrescos y aguas carbonatadas, un decremento de 0.9% comparado con los 160.1 litros consumidos en 2007. Este consumo *per capita* equivale a un consumo diario de 431 mililitros de refresco (de los cuales 409 mililitros están endulzados con edulcorantes energéticos y el resto con edulcorantes bajos en calorías) (ANPRAC, 2011).

De acuerdo con el Comunicado de los Consumidores por los Derechos del Consumidor y contra los Monopolios de septiembre del 2011 se aprecia en la Figura 2.3 que, en el consumo de refrescos por país, México sigue ocupando el lugar más alto. Los datos fueron obtenidos de las fuentes de Datamonitor (2009), Euromonitor (2009), Andreyeva y col. (2011) y del Dr. Kelly Brownell, de la Universidad de Yale, Rudd Center for Policy and Obesity, citadas en el Comunicado (2011).

El consumo de bebidas ricas en azúcar, mieles fructosadas (etiquetadas como “azúcares”) o edulcorantes hipoenergéticos, como los refrescos o los jugos, promueven una ingesta energética excesiva para los primeros y de sustancias químicas cuyo efecto parece ser que estimula la absorción de la glucosa ingerida en la dieta (Dyer y col., 2007; Mace y col., 2007), facilitando un balance de energía positivo y una ganancia de masa corporal. El metabolismo hepático de la fructosa, muy utilizada en mieles combinadas de fructosa y glucosa, en la industria refresquera y de alimentos, facilita la lipogénesis. De hecho, el alto consumo de fructosa es uno de los agentes que podrían explicar la epidemia actual de obesidad en las sociedades occidentales (Jürgens y col., 2005; Sánchez-Lozada y col.,

2007). Por ello, el reducir el consumo de refrescos en pacientes con sobrepeso es quizás, una importante estrategia de reducir la ingesta energética, directa o indirecta, ya que se ha encontrado que las personas que se encuentran en tratamientos de reducción de “peso” (masa corporal, más correctamente), al restringirse el refresco, propician una mayor pérdida de masa que las personas que lo consumen (Tordoff y Alleva, 1990).

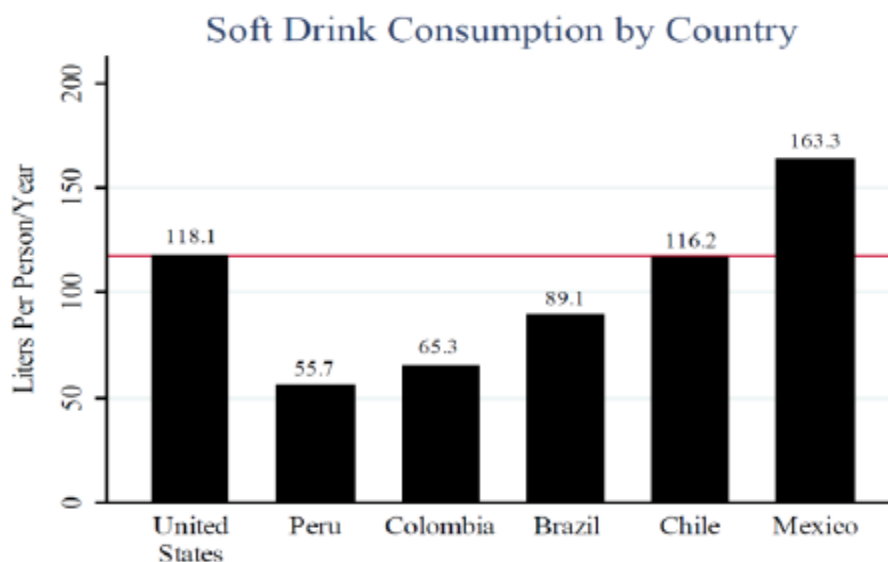


Figura 2.3. Comunicado “Por los Derechos del Consumidor y contra los Monopolios” (Comunicado, 2011)

La Agencia de Alimentos y Medicamentos de los EEUU, *FDA* por sus siglas en inglés, aprobó el uso de edulcorantes no-nutritivos o hipoenergéticos como la sacarina, el aspartame, la sucralosa y el acesulfame de potasio. La Asociación Americana de Diabetes recomienda consumirlos como sustitutos del azúcar o de las mieles fructosadas dentro de los niveles de ingesta diaria establecidos por la *FDA*. Por ello, actualmente muchos productos los utilizan como los refrescos “*light*”, los chicles, las pastillas, las gelatinas, los dentífricos, entre otros, con la finalidad de cumplir una función organoléptica (Tordoff y Alleva, 1990).

Sin embargo, estudios recientes cuestionan el uso de estos edulcorantes hipoenergéticos ya que parecen favorecer la absorción de la glucosa en el aparato digestivo (Dyer y col., 2007; Mace y col., 2007). Los edulcorantes artificiales, se agregan a una gran variedad de alimentos y bebidas aunque su empleo todavía es muy dudoso sobre los efectos benéficos o adversos que producen. Desde su introducción en el mercado, los medios de comunicación han divulgado sobre los riesgos que muchos de ellos ocasionan, sin embargo esto no

importa a las industrias transnacionales que los emplean anteponiendo sus intereses económicos antes que la salud del consumidor (Weihrauch y Diehl, 2004).

2.1.1. EL SOBREPESO Y LA OBESIDAD EN MÉXICO

Antes se consideraba que la obesidad y el sobrepeso eran un problema exclusivo de los países de altos ingresos. Hoy el sobrepeso y la obesidad están aumentando en los países de ingresos bajos y medios, sobre todo en las zonas urbanas. En México, de acuerdo con datos de la Coordinación de Programas Integrados de Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), siete de cada 10 personas adultas tienen sobrepeso u obesidad y por grupo de edad la obesidad afecta hasta el 33% de la población y, sumada al sobrepeso, afecta casi al 70% de los mexicanos (IMSS, 2009).

2.1.2. DEFINICIÓN DE LA DIABETES

La diabetes es una enfermedad ocasionada por la incapacidad del organismo para generar insulina o utilizarla correctamente. El páncreas produce esta hormona para regular el uso de la glucosa (azúcar simple de una sola molécula obtenida de los alimentos) en el organismo. Por esta razón, la insulina es vital para que el proceso metabólico se lleve a cabo correctamente; es decir que el azúcar de caña, el almidón y otros alimentos que la posean sean transformados para obtener la energía que es necesaria para la vida diaria. Aunque las formas más comunes de diabetes son la **diabetes tipo 1** y la **diabetes tipo 2**, también existe la **diabetes gestacional** (IMSS, 2009).

2.1.2.1. Diabetes tipo 1

La diabetes tipo 1 se presenta sobre todo en niños, adolescentes y adultos jóvenes. Esto es a consecuencia de que el organismo no produce insulina todos los días. Las personas que tienen diabetes tipo 1 también, de vez en cuando, sufren de hipoglucemia o hiperglucemia y, en casos extremos, de cetoacidosis (IMSS, 2009).

2.1.2.2. Diabetes tipo 2

La diabetes tipo 2 es la forma más común. En este tipo, el organismo no produce la cantidad suficiente de insulina o crea una resistencia a ella. A corto plazo esto puede afectar la cantidad de energía que procesa el organismo. A largo plazo, esta enfermedad puede llevar consigo complicaciones en órganos internos y afectar el desempeño de actividades diarias.

Las personas que tienen diabetes tipo 2 también, de vez en cuando, sufren de hipoglucemia o hiperglucemia (IMSS, 2009).

2.1.2.3. La diabetes gestacional

La diabetes gestacional es la hiperglucemia que se identifica por vez primera durante el embarazo. Sus síntomas son similares a los de la diabetes tipo 2, pero suele diagnosticarse por las pruebas realizadas durante los exámenes prenatales, más que por la manifestación de síntomas (IMSS, 2009).

2.1.3. INSULINA

La insulina es una hormona producida por las células beta de los islotes de Langerhans situados en el páncreas y que se segrega en respuesta al estímulo de una concentración creciente de glucosa en sangre. Como fármaco se administra a los pacientes con diabetes tipo 1 y en aquéllos con diabetes tipo 2 que presentan deterioro de las células beta y progresión de su enfermedad. Fue descubierta por Banting y Best en 1921 y en 1954 se estableció su naturaleza proteínica (Corzar y col., 2010). La liberación de insulina es un factor potencialmente importante en la regulación de la masa corporal.

La insulina y los receptores de insulina se encuentran en una amplia distribución en todo el cerebro y, en particular, se encuentran en los ámbitos relacionados con la homeostasis energética. Se ha sugerido que la insulina, tanto a corto como a largo plazo, influye en la ingesta de alimentos y la regulación de la masa corporal.

Al igual que en la periferia, donde estimula la actividad anabólica y la síntesis de lípidos, la falta de insulina o su no aprovechamiento se ha sugerido como causa de aumento de masa corporal. Ambos niveles de insulina, en ayunas y después de una comida, se correlacionan con adiposidad. Durante más de 24 h, la secreción general de la insulina es proporcional a la grasa contenida del cuerpo. Se han desarrollado varias dietas sobre la base de la opinión de que la minimización de la insulina conduce a una menor deposición de grasa. Sobre esta base se supone que el consumo de sacarosa, en lugar de un edulcorante artificial, conduciría a un aumento en la masa corporal, ya que provocaría una mayor secreción de insulina (Benton, 2005).

Lo interesante es que cuando se ingieren edulcorantes artificiales, según otros autores, se aumenta la asimilación de la glucosa en el intestino delgado a través de transportadores de

glucosa (GLUT2 apical) (Mace y col., 2007). Esto implica que es necesario estudiar estos efectos de manera más holística (Figura 2.4).

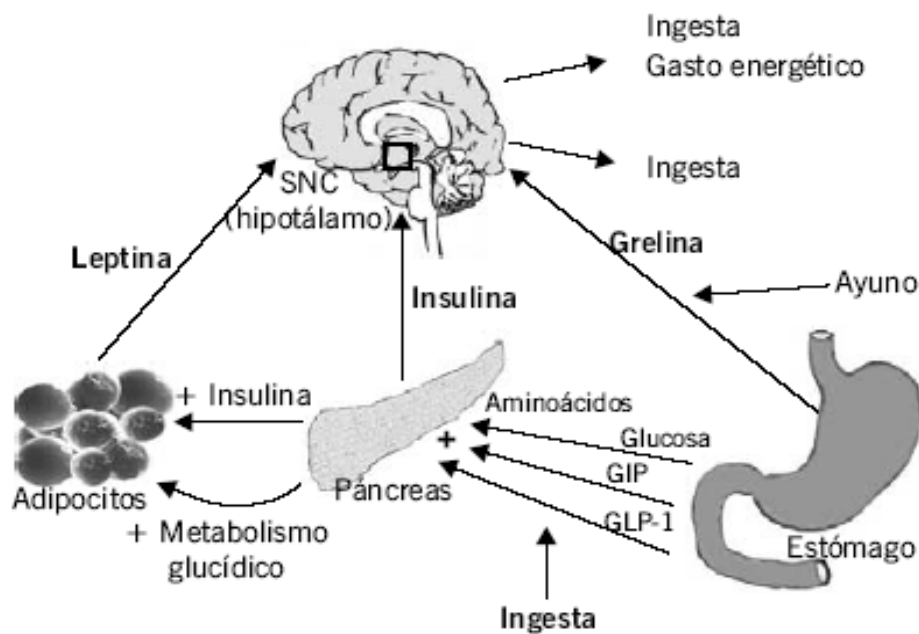


Figura 2.4. Vías y señales implicadas en la regulación central de la ingesta y la homeostasis energética (Palou y col., 2004)

2.1.4. SÍNDROME METABÓLICO

Se denomina síndrome metabólico al conjunto de alteraciones metabólicas constituido por la obesidad de distribución central, la disminución de las concentraciones del colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (*HDL*, por sus siglas en inglés, *high density lipoproteins*), la elevación de las concentraciones de triglicéridos, el aumento de la presión arterial (PA) y la hiperglucemia. El síndrome metabólico se está convirtiendo en uno de los principales problemas de salud pública del siglo XXI. Asociado a un incremento de 5 veces en la prevalencia de la diabetes tipo 2 y de 2-3 veces en la de enfermedad cardiovascular (ECV), se considera que el síndrome metabólico es un elemento importante en la epidemia actual de diabetes y de ECV, de manera que se ha convertido en un problema de salud pública importante en todo el mundo. La morbilidad y la mortalidad prematura debida a la ECV y la diabetes podrían desequilibrar completamente los presupuestos sanitarios de muchos países desarrollados o en vías de desarrollo (Zimmet y col., 2005).

El síndrome metabólico ha sido recientemente reconocido como un factor de riesgo para la enfermedad renal. El consumo de una dieta alta en fructosa por animales de laboratorio produce un modelo del síndrome metabólico que presenta hipertensión, hiperlipidemia y

resistencia a la insulina. También dicho modelo animal presentó una mayor concentración de proteinuria, aumento de urea en sangre, daño celular en los riñones y una mayor mortandad a lo largo del estudio (Gersch y col., 2007).

Se sugiere que los azúcares que contienen fructosa pueden jugar un papel importante en el desarrollo de la hipertensión, obesidad, del síndrome metabólico y en el posterior desarrollo de una enfermedad renal (Johnson y col., 2010, 2007; Sánchez-Lozada y col., 2007).

Aunque la fructosa se ha recomendado a pacientes diabéticos para no elevar los niveles de glucosa en sangre, varios investigadores han planteado la preocupación de que la fructosa pueda contribuir a la actual epidemia del síndrome metabólico (Gersch y col., 2007; Johnson y col., 2010, 2007; Sánchez-Lozada y col., 2007).

Según Gimeno y col., (2004), la Organización Mundial de la Salud, OMS, por sus siglas en español, considera que una persona tiene síndrome metabólico si cumple con 2 o más de los siguientes criterios:

- *Hipertensión* (presión sistólica > 160 mmHg y presión diastólica > 90 mmHg o tratamiento con hipotensores).
- *Dislipidemia* (triglicéridos > 150 mg/dL y colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad [cHDL] < 35 mg/dL en el varón o menor de 40 mg/dL en la mujer).
- *Obesidad* (IMC > 30 y CC > 0.9 en el varón o mayor de 0.85 en la mujer), donde IMC son las siglas de índice de masa corporal y CC son las siglas del cociente cintura-cadera.
- *Microalbuminuria* (tasa de excreción de albúmina > 30 mg en 24 h) (Zimmet y col., 2005).

2.1.5. EL ÍNDICE GLUCÉMICO, IG Y LA INGESTA DE ALIMENTOS

Una disminución de la ingesta de grasas normalmente conduce a un aumento del consumo de hidratos de carbono, a menudo con un alto índice glucémico, IG o *GI*, por sus siglas en inglés. Contrasta el efecto del IG sobre la saciedad; menos hambre y la reducción de la ingesta de alimentos se asocian con un mayor aumento de la glucosa en la sangre. Sin embargo, recientemente, se ha refutado el hecho de que los edulcorantes artificiales, ya que no aumentan la glucosa en la sangre, pudieran tener un menor impacto sobre la saciedad puesto que hacen que la glucosa que se ingiere sea asimilada por el GLUT2 apical (Mace y col., 2007). Una dieta de bajo IG en el control de la masa corporal está todavía en debate ya que mientras algunos investigadores argumentan su valor otros cuestionan su utilidad (Benton, 2005).

2.1.6. HIPERLIPIDEMIA Y LOS ALIMENTOS

Cuando hay demasiadas grasas (o lípidos) en la sangre, como el colesterol y los triglicéridos, que son importantes para que nuestros cuerpos funcionen, y los niveles son muy altos pueden poner a las personas en riesgo de desarrollar una enfermedad cardíaca o un derrame cerebral. La hiperlipidemia es causada por una dieta que contiene demasiado colesterol y grasa (por ejemplo, carne, queso, crema, huevos y mariscos) o cuando el cuerpo produce demasiado colesterol y grasa, o ambos. Las grasas no se disuelven en agua. Para que las grasas puedan ser transportadas en el organismo, se tienen que combinar con una proteína para crear una *lipoproteína*. El cuerpo tiene varias clases de lipoproteínas:

- Lipoproteína de baja densidad (o *LDL*)
- Lipoproteína de alta densidad (o *HDL*)
- Quilomicrones
- Lipoproteínas de muy baja densidad (*VLDL*)
- Etc.

Cuando en la relación *LDL* y *HDL* hay un exceso de *LDL*, conocido como “colesterol malo”, se puede acumular en las arterias (los vasos sanguíneos por los que se transporta la sangre a través de todo el cuerpo) y, con el tiempo, pueden causar una enfermedad cardíaca o un derrame cerebral. Si por el contrario el cuerpo tiene un exceso de *HDL*, el “colesterol bueno,” éste protege al corazón porque ayuda a eliminar el *LDL* acumulado en las arterias. Un nivel bajo de *HDL* y triglicéridos elevados también pueden aumentar la acumulación de grasa en las arterias y causar enfermedades cardíacas, especialmente en las personas obesas o diabéticas (Kreisberg y Reusch, 2005).

Los niveles deseables de grasas en la sangre son los siguientes (Kreisberg y Reusch, 2005):

- Colesterol total: Menos de 200 mg/dL (un nivel de más de 200 puede indicar un mayor riesgo de enfermedad cardíaca)
- Colesterol *HDL*: Más de 40 mg/dL en los hombres y 50 mg/dL en las mujeres
- Colesterol *LDL*: Menos de 130 mg/dL (las personas enfermas del corazón o diabéticas deben tener menos de 100 mg/dL)
- Triglicéridos: Menos de 150 mg/dL

2.2. DEFINICIÓN DE LOS EDULCORANTES

Edulcorante es una sustancia que endulza los alimentos o medicamentos (y edulcorar es endulzar cualquier producto de sabor desagradable o amargo con sustancias naturales, como el azúcar, la miel, etc., o sintéticas, como la sacarina). Algunos sustitutos del azúcar son naturales y algunos son sintéticos. Aquellos que no son naturales se conocen como edulcorantes hipoenérgicos o bajos de calorías. Una clase importante de sustitutos del azúcar a los que se conoce como edulcorantes de alta intensidad son compuestos con una dulzura que duplica o triplica la de la sacarosa y, por lo tanto, se requiere mucho menos edulcorante y la contribución de la energía dada por ellos es a menudo insignificante. La sensación de dulzura causada por estos compuestos es, a veces, notablemente diferente de la sacarosa, por lo que a menudo se usan en mezclas complejas que logran la sensación más dulce "natural" o cercana a la del azúcar de caña o de remolacha. Esto se puede percibir en los refrescos etiquetados como "de dieta" o "*light*", que contienen mezclas de edulcorantes artificiales y con frecuencia tienen la sensación en boca notablemente diferente (Bautista-Justo y col., 2005).

Desde el punto de vista químico, el azúcar de caña o remolacha tiene otras funciones en los alimentos, además de dar dulzor, especialmente las de conservador químico para evitar la presencia de microorganismos o la de conferir características organolépticas específicas, como la textura.

Arriba se mencionaron los dos tipos de edulcorantes:

- Energéticos o nutritivos
- Hipoenérgicos o poco nutritivos

Los edulcorantes energéticos proporcionan de 3.75 a 4.0 kilocalorías por gramo (41.7 kcal/100mL, de acuerdo con Jürgens y col., 2005) y las variedades conocidas como hipocalóricas proporcionan valores muy bajos (1.2 kcal/100mL, de acuerdo con Jürgens y col., 2005) puesto que siempre vienen acompañados de glucosa como excipiente y para potenciar su sabor.

Entre los energéticos se encuentra la sacarosa (que no es otra cosa que el azúcar de caña o de remolacha).

También está la fructosa, llamada azúcar de las frutas ya que de ellas se aisló originalmente, aunque actualmente se produce de la hidrólisis de los almidones de maíz para obtener los monómeros de glucosa que son después invertidos a fructosa y que es 1.5 veces más dulce que el azúcar.

Siendo un monómero, su valor energético es ligeramente menor que el del azúcar (que es un dímero), de 3.75 kcal/g, por lo que teóricamente sí se requieren cantidades menores para lograr el mismo grado de dulzor, implicando un menor contenido energético.

La miel de abejas, la melaza, el piloncillo, la maltosa, la lactosa, entre otros más, también son edulcorantes energéticos o nutritivos. Los edulcorantes artificiales son compuestos elaborados por el ser humano, cuyo aparente beneficio radica en que son mucho más dulces que el azúcar común y que al ponerlos en cantidades mucho menores dan un menor aporte energético, sin perder el sabor dulce (Aguilar, 1999).

2.2.1. Función de los edulcorantes

Los edulcorantes conocidos como energéticos (o *calóricos* en el lenguaje coloquial ya que esta palabra tiene otro significado para la lengua española³) contribuyen a la calidad del producto ya que actúan como conservadores en las mermeladas y en las gelatinas y dan un sabor más intenso a las carnes procesadas.

Proporcionan fuentes de glucosa para la fermentación de los panes y salsas agridulces, dan volumen a las cremas heladas y dan cuerpo a las bebidas carbonatadas. Algunos edulcorantes energéticos se hacen procesando diferentes materias primas y otros se producen de manera natural.

En algunos casos, los edulcorantes hipoenergéticos, llamados así aunque siempre vienen adicionados de una pequeña cantidad de glucosa para potenciar el sabor y como excipiente, se emplean en lugar de los energéticos. Ellos no proporcionan tantas kilocalorías pero sí confieren sabor dulce. Todos los edulcorantes hipoenergéticos son químicamente procesados (Bautista-Justo y col., 2005).

³ Diccionario de la Lengua Española (22ª edición): **1.** m. *Fís.* Principio o agente hipotético que se creyó causante de los fenómenos del calor. **2.** m. Sensación de calor. Por otro lado, la caloría es la unidad de energía térmica equivalente a la cantidad de calor necesaria para elevar la temperatura de un gramo de agua en un grado centígrado, de 14.5 a 15.5°C, a la presión normal; equivale a 4.185 Joules (Símbolo. *cal*)

2.3. EDULCORANTES ENERGÉTICOS

Los edulcorantes naturales son edulcorantes que se extraen de productos naturales sin ningún tipo de modificaciones químicas durante el proceso de producción o extracción. Algunos de estos edulcorantes han estado en uso durante décadas, mientras que otros, como el azúcar de caña y de remolacha, durante siglos.

Los edulcorantes naturales son bien conocidos y su proceso de producción se ha ido perfeccionando con el tiempo haciendo su costo más bajo, permitiendo a su alta demanda hasta principios de los años 60 del siglo XX. Aportan, en general, 4 kcal de energía por gramo.

Para este proyecto, se destacan la sacarosa y la fructosa de origen natural.

2.3.1. SACAROSA

2.3.1.1. Historia

La sacarosa es un disacárido, formado a partir de los monosacáridos glucosa y fructosa y tiene una masa molecular de 342.3g/gmol. La glucosa y la fructosa están unidas por un enlace glucosídico entre el átomo de carbono 1 de la unidad de glucosa y el átomo de carbono 2 de la unidad de fructosa. Se encuentra en el azúcar de caña y en la remolacha, ya sea sin refinar, granulada, morena, de pastelería y mascabado, entre otros productos derivados de su obtención. Su estructura química se muestra en la Figura 2.5.

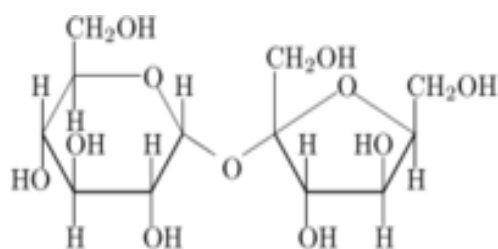


Figura 2.5. Estructura de la sacarosa

La caña de azúcar se cultiva en más de 110 países con una producción total estimada de 1591 millones de toneladas métricas en 2007, más de seis veces la producción de remolacha azucarera. En 2005, el mayor productor mundial de caña de azúcar fue Brasil, seguido por la India. El consumo de azúcar varía según el país, en función de las tradiciones culturales. Brasil tiene la mayor producción per cápita y la India tiene el mayor consumo por

país. La Unión Europea, los Estados Unidos y Rusia son los tres más grandes productores de remolacha azucarera, aunque sólo la Unión Europea y Ucrania son importantes exportadores de azúcar de remolacha. Los EEUU cosecharon 4065 km² de remolacha azucarera en 2008. La remolacha azucarera representa el 30% de la producción mundial de azúcar (Gutiérrez-Moreno y Carro-Suárez, 2005).

2.3.1.2. Metabolismo

El azúcar es una sustancia *sui generis* ya que el enlace formado por un carbono aldehídico glucógeno, así como para la oxidación a través de la vía de las pentosas como fuente de su glucosa se une al cetónico de su fructosa estableciendo un enlace glucosídico que impide que este disacárido sea reductor por carecer de grupos aldehído o cetonas, a diferencia de los demás azúcares o glúcidos⁴ que son reductores (Baduí-Dergal, 1998). Este enlace se rompe en el organismo para producir sus monómeros de glucosa y fructosa, siendo ambos metabolizados en el hígado, que utiliza poca glucosa para la producción de energía. La mayor parte de la energía la obtiene por la oxidación del FADH₂, FMNH₂ Y NADH, así como por descarboxilación oxidativa del acetil.CoA proveniente de ácidos grasos y aminoácidos. La glucosa se utiliza para su incorporación directa al glucógeno, así como para la oxidación a través de la vía de las pentosas como fuente de NADPH para la síntesis de ácidos grasos. En exceso de glucosa, el acetil-CoA generado en la glicólisis sirve de fuente para la síntesis de ácidos grasos, siendo el principal lugar del catabolismo de los otros monosacáridos de la dieta. El hígado es el órgano gluconeogénico por excelencia, el lactato, la alanina, el glicerol y los aminoácidos gluconeogénicos son los principales substratos. Contribuye de manera decisiva a la homeostasis de la glucemia a través de la glucogenólisis y de la gluconeogénesis y está regulada hormonalmente (Lehninger y col., 2006).

Aquí es importante mencionar que muchos artículos científicos y de divulgación confunden el término azúcar (o *sugar* en inglés) con el término azúcares. Azúcar, según el diccionario de la lengua española, viene del árabe hispánico *assúkkar*, éste del árabe clásico *sukkar*, éste del griego *σάκχαρι*, y éste del pelvi *šakar*. Es un cuerpo sólido cristalizado, perteneciente al grupo de los glúcidos, de color blanco en estado puro, soluble en el agua y en el alcohol y de sabor muy dulce. Se obtiene de la caña dulce, de la remolacha y de otros vegetales. Según su estado de pureza o refinación, se distinguen diversas clases.

⁴ Los glúcidos o hidratos de carbono son cada una de las sustancias orgánicas formadas por carbono, hidrógeno y oxígeno, que contienen los dos últimos elementos en la misma proporción que la existente en el agua; p. ej., la glucosa, el almidón y la celulosa (Diccionario de la lengua española)

Según la química de alimentos, **un glúcido o azúcar (no solamente el azúcar)** es, como dice la nota al pie, cualquier compuesto químico formado por carbono, hidrógeno y oxígeno, que contienen los dos últimos elementos en la misma proporción que la existente en el agua; p. ej., la glucosa, el almidón y la celulosa, estos últimos teniendo a la glucosa como su monómero. De aquí proviene la confusión de usar la palabra azúcares como sinónimo del azúcar y la legislación mexicana debería modificar la norma de etiquetado para evitar que los consumidores, los servicios de salud y otras instancias satanicen al azúcar como causante de la obesidad y el sobrepeso cuando la responsabilidad de consumo excesivo de glúcidos en la actualidad es atribuible más a la fructosa proveniente de las mieles de maíz que a la propia azúcar (Figura 2.6).

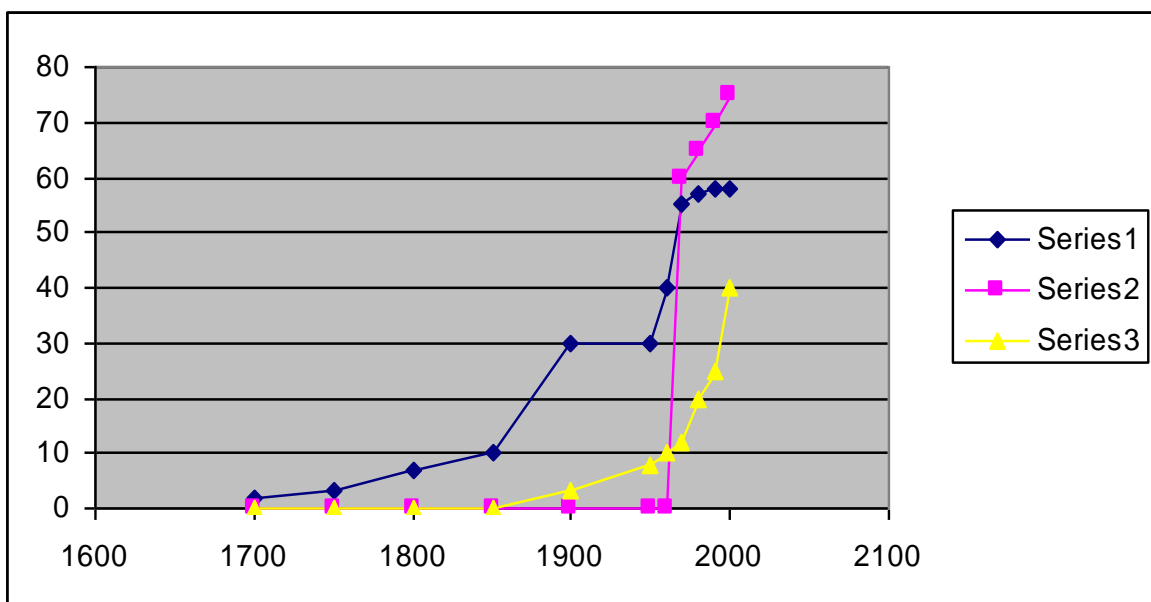


Figura 2.6. Gráfica tomada del artículo "Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease". (Johnson y col., 2007), complementado con datos de consumo de mieles fructosadas en los EE.UU (Serie 1: Consumo de azúcar de caña, Serie 2: Consumo de mieles fructosadas, Serie 3: % de obesidad)

En esta tesis, cuando se mencione la palabra azúcar, ésta se refiere exclusivamente a la sacarosa o azúcar de caña o remolacha. El resto de los glúcidos serán denominados por su nombre específico aunque se les clasifique como químicamente como azúcares (en plural) o, mejor aún, como glúcidos, que es como deberían nombrarse: Lactosa, fructosa, glucosa, etc.

2.3.1.3. Toxicología

Aunque no necesariamente un nivel alto de glucosa (hiperglicemia) es indicativo de un nivel alto de sacarosa, si este edulcorante natural se consume en exceso, es probable que la glucosa proveniente de ella, esté en exceso en la sangre y pueda ser un signo de mal funcionamiento del páncreas y del hígado.

No se encontraron en la literatura datos de toxicidad de la sacarosa pero sí de la glucosa y de la fructosa, los dos derivados de la sacarosa. Los niveles altos de glucosa en la sangre pueden producir daño en los ojos, nervios, riñones y corazón a largo plazo. También pueden tener un efecto secundario de los inhibidores de la proteasa. En cambio, los niveles bajos de glucosa en la sangre (hipoglicemia) pueden causar fatiga. Este síntoma también puede ser causado por otras enfermedades (Lehninger y col., 2006).

La insulina controla el nivel de glucosa en las personas sanas. La insulina es una hormona producida por el páncreas y facilita el traslado de la glucosa de la sangre a las células para producir energía. Los niveles altos de glucosa en la sangre pueden indicar que el páncreas no está produciendo suficiente insulina. Sin embargo, algunas personas aunque producen suficiente insulina, su cuerpo no responde normalmente como debiera. A esto se le conoce como "resistencia a la insulina". En cualquiera de estos casos, las células no obtienen suficiente glucosa para producir energía y la glucosa se acumula en la sangre (Benton, 2005).

2.3.2. FRUCTOSA

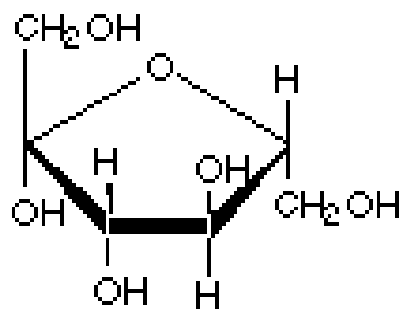
2.3.2.1. Historia

La fructosa es un edulcorante natural que fue introducido como un sustituto del azúcar de mesa a mediados de los años 70 del siglo XX (Figuras 2.7 a,b). Una de las fuentes de fructosa es la propia sacarosa o azúcar de mesa, que proviene en general de la caña de azúcar o de la remolacha azucarera, donde el jugo que contiene el azúcar debe ser hidrolizado. Otras fuentes de fructosa son la miel de abeja y las frutas como: dátiles, higos, manzanas, uvas, fresas y moras. En el jugo de manzana, por ejemplo, el 65% de la energía proviene de la fructosa y en el jugo de naranja, el 40-45%, mientras que un 40% de los glúcidos de la miel de abeja son moléculas de fructosa (Durán-de-Bazúa, 2007).

Sin embargo, la principal fuente de fructosa en la dieta actual proviene de la hidrólisis química de los excedentes de almidón de maíz hasta su monómero, la glucosa, que es invertida a fructosa, porque es más dulce que la glucosa y que el azúcar de caña o

remolacha. Esta hidrólisis e inversión pueden hacerse por métodos bioquímicos o químicos. Estas mieles fructosadas son ampliamente usadas en la industria refresquera y en la alimentaria por las propiedades que poseen de alta solubilidad en agua pero, sobre todo, porque son producidas a partir de maíz subsidiado de origen estadounidense lo que las hace mucho más baratas que el azúcar de caña o remolacha. Esto constituye un problema de *dumping* pero como Estados Unidos ejerce una fuerte presión en la OECD, prácticamente ninguna demanda en contra de la venta de estas mieles ha prosperado (Esquivel-Solís y Gómez-Salas, 2007).

La fructosa se utiliza como edulcorante en alimentos preparados o se vende granulada para uso de los consumidores, a quienes erróneamente se les ha hecho creer que por no requerir de insulina para ser metabolizada, se puede utilizar sin restricción alguna. La principal fuente de fructosa a nivel de la industria de alimentos es el jarabe o sirope de maíz alto en fructosa, que se adiciona a gran cantidad de alimentos como cereales de desayuno, postres, repostería, helados, confites, jugos o zumos, bebidas endulzadas y refrescos gaseosos. Incluso en alimentos aparentemente no dulces como el pan de caja y las galletas de soda se tienen mieles fructosadas adicionadas.



Fructosa

Figura 2.7a. Estructura de la fructosa

Se ha estimado que el consumo de jarabe de maíz alto en fructosa ha aumentado de forma alarmante en las últimas décadas, pasando de 230 gramos anuales per cápita en 1970, a 28.7 kilogramos por año en 1997 (Figura 2.6). Se ha reportado que una persona puede consumir de 16-20 gramos de fructosa por día, proveniente de las frutas frescas, pero el uso de fructosa como aditivo o edulcorante ha llegado a incrementar el consumo hasta aproximadamente 85-100 gramos diarios.

Durante el consumo excesivo y sostenido de fructosa, la tasa de absorción aumenta, lo que sugiere una adaptación fisiológica ante el incremento en la ingesta dietética (Esquivel-Solís y Gómez-Salas, 2007). La Figura 2.7b. presenta su metabolismo como se señala en el siguiente apartado.

2.3.2.2. Metabolismo

La fructosa libre, consumida como tal o como producto de la hidrólisis e inversión enzimática de los almidones o de la sacarosa es absorbida principalmente en el duodeno y el yeyuno. La fructosa es absorbida por difusión facilitada a nivel de yeyuno, a través de una proteína transportadora denominada GLUT 5, en un proceso no dependiente de sodio.

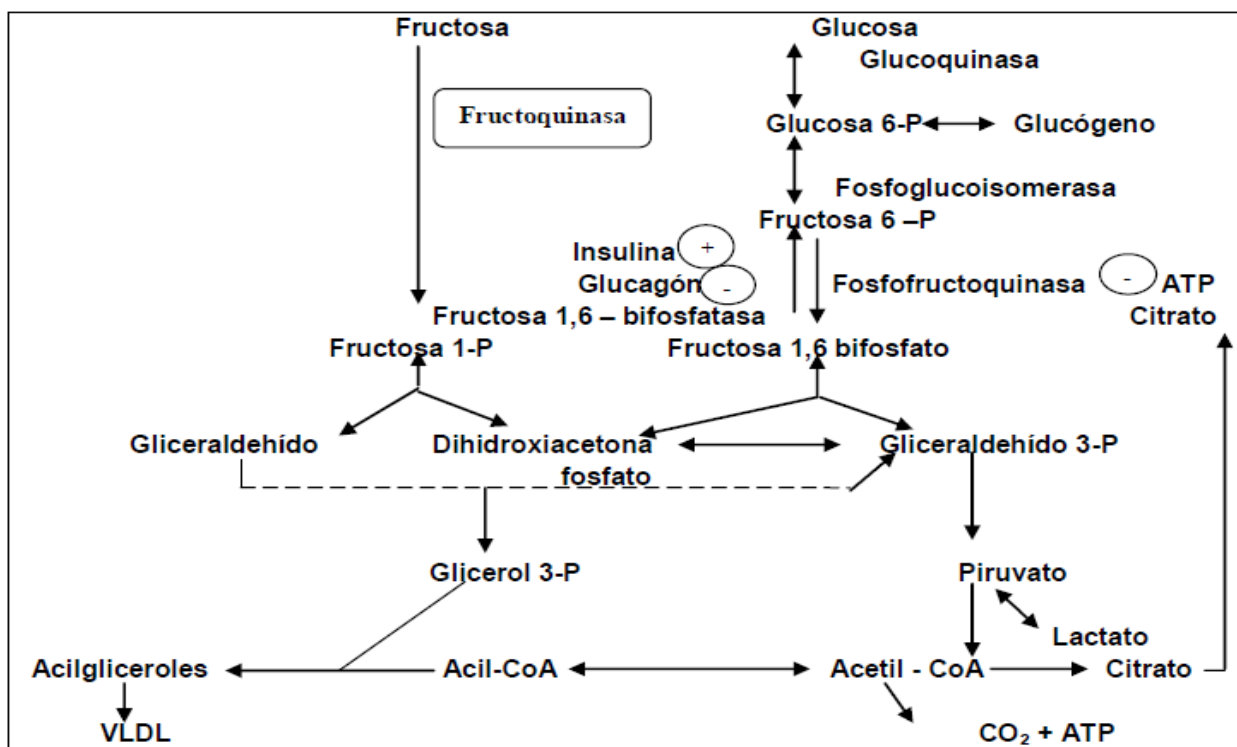


Figura 2.7b. Metabolismo de la fructosa, donde VLDL = Lipoproteínas de muy baja densidad (Esquivel-Solís y Gómez-Salas, 2007)

La fructosa administrada por vía oral como monosacárido se absorbe completamente en el intestino delgado y llega al hígado por la circulación portal. Es transportada al espacio intracelular por medio de la mencionada proteína transportadora GLUT 5 y tampoco depende de la actividad de la insulina.

La glucosa, por otro lado, en el interior de la célula es fosforilada a fructosa-1-fosfato, por acción de la fructoquinasa o fructocinasa (*FK*, en inglés), para luego transformarse en gliceraldehído y dihidroxiacetonafofosfato. El gliceraldehído toma la ruta de la glucólisis dando lugar como productos finales al piruvato, lactato y acetil CoA. Este último se convierte en citrato y libera ATP y CO₂. Tanto el ATP como el citrato actúan ejerciendo una respuesta negativa sobre la fosfofructoquinasa (*FFK*, en inglés), controlando de esta manera la vía glucolítica. En cambio, en la vía de la fructosa, la *FK* no posee mecanismos regulatorios, por lo que la acumulación de las triosas sigue la vía de la síntesis de acilglicerol al igual que el acetil CoA brindando los átomos de carbono para la síntesis de fosfolípidos y triglicéridos.

En resumen, mientras que el metabolismo de la glucosa posee un autocontrol mediante la respuesta negativa de la enzima moduladora, la fosfofructoquinasa, la vía de la fructosa, carente de inhibición, se constituye en una fuente de átomos de carbono para la síntesis de triglicéridos (Tappy y Lee, 2010).

2.3.2.3. Toxicología

Inicialmente, entre las ventajas del uso de la fructosa, se destacó el hecho de no ejercer un efecto significativo sobre la glicemia (con un índice glicémico de 20 en comparación con un índice glicémico de 100 para la glucosa) o la insulinemia, así sobre la producción de ácidos grasos y triglicéridos. El consumo de pequeñas cantidades de fructosa (probablemente como monosacárido) estimula la glucogenogénesis en hígado lo que reduce la glucemia en pacientes con diabetes tipo II. A partir de ésta y otras consideraciones, la fructosa fue incorporada en la elaboración de productos alimenticios dirigidos específicamente al tratamiento nutricional del paciente diabético. Sin embargo, en los últimos años se ha reconocido que el consumo de cantidades de fructosa que aporten un 25% ó más de la ingesta diaria de calorías, puede ocasionar desórdenes en el metabolismo de los lípidos y síntomas gastrointestinales (Johnson y col., 2007, 2010; Jürgens y col., 2005; Sánchez-Lozada y col., 2007; Stanhope y col., 2009; Stanhope y Havel, 2009).

En otro estudio se evaluó la fructosa a corto plazo. El acceso a la fructosa puede causar aumento de la masa corporal, la grasa corporal y los triglicéridos circulantes. Este estudio constó de dos experimentos. En el primer experimento se utilizaron ratas Sprague-Dawley que se mantuvieron durante 8 semanas a diferentes concentraciones de fructosa en el agua y alimento, midiendo el consumo de comida y agua *ad libitum*, donde se observó que, en efecto, había un aumento en la masa corporal (Johnson y col., 2007). En el segundo experimento, se evaluaron los efectos a largo plazo de fructosa en la masa corporal y los

parámetros relacionados con la obesidad, así como las diferencias de género. A través del transcurso de 6 a 7 meses, tanto en ratas macho como hembra con el acceso a la fructosa se tuvo significativamente más masa corporal que la de los grupos control. Este aumento en la masa corporal con fructosa fue acompañado por un aumento de la adiposidad, especialmente en la región abdominal y elevación de los niveles circulantes de triglicéridos. Traducido a los seres humanos, estos resultados sugieren que el consumo excesivo de fructosa puede contribuir a la incidencia de la obesidad (Bocarsly y col., 2010).

2.4. EDULCORANTES HIPOENERGÉTICOS

Los consumidores y los fabricantes de alimentos en los EEUU, desde el bloqueo a Cuba en los años 60 del siglo XX, se interesaron por sustituir la sacarosa que venía de esa isla y que era importada en un 100% desde ese país, por otros edulcorantes. Los de origen sintético ocuparon un lugar preponderante y, para ello, se plantearon justificaciones como la reducción de energía y el riesgo de caries dental. Sin embargo, su inocuidad ha sido motivo de controversia. También la producción de mieles fructosadas a partir del maíz estadounidense ocupó un lugar preponderante en esa sustitución del azúcar cubano lo que probablemente contribuyó en la epidemia de obesidad a la que se enfrenta el mundo occidental donde estas mieles se usan de manera amplia (Durán-de-Bazúa, 2007; Martínez-Tinajero y col., 2006).

Los edulcorantes artificiales han ido recibiendo una mayor atención debido a sus efectos sobre la regulación de la ingesta energética global y no solamente para los insulino dependientes, dado que su uso representa ganancias verdaderamente elevadas para las empresas que las producen. La empresa Leatherhead Food Research señala en una publicación reciente que las ventas de estos edulcorantes artificiales para las industrias de alimentos y bebidas carbonatadas y no carbonatadas, junto con otros aditivos artificiales, alcanzó la cifra de \$27,400 millones de dólares en 2010 (*Leatherhead International Limited*, 2010).

En este apartado se proporciona una visión general de los tipos de edulcorantes artificiales más empleados en México, su historia, estructura química, el destino biológico, los efectos fisiológicos, estudios en animales y, si existen publicados, algunos estudios en humanos, así como las normas y reglamentos vigentes.

Los edulcorantes no nutritivos, más conocidos como edulcorantes artificiales, son sustancias químicas de varias clases diferentes que interactúan con los receptores del gusto y, por lo

general, ofrecen la sensación de mayor dulzura que la sacarosa por un factor de 30 a 13000 veces.

2.4.1. ASPARTAME

2.4.1.1. Historia

En 1965, el químico Searle estaba estudiando nuevos tratamientos para las úlceras gástricas. Para probar nuevos medicamentos contra la úlcera, los biólogos utilizan un tetrapéptido que normalmente se produce en el estómago. Para sintetizar este tetrapéptido, uno de los pasos en el proceso era hacer un intermediario, 3-aspartil-4-fenilalanina. Accidentalmente, una pequeña cantidad del compuesto aterrizó en la mano del químico. Sin darse cuenta, el químico se lamió los dedos y descubrió un sabor dulce. Después de darse cuenta que era de los intermediarios en polvo y creyendo que no iban a ser tóxicos, de nuevo probó el medio y encontró que era realmente dulce y lo nombró aspartame (O'Brien-Nabors, 2011; O'Brien-Nabors y Gelardi, 1991). La Figura 2.8a muestra su estructura química.

El aspartame fue aprobado por la FDA en 1981 como producto para cientos de millones de personas en países de todo el mundo y como edulcorante de mesa. En 1996, fue aprobado como edulcorante de uso general en todos los alimentos y bebidas (FDA, 2010). Desde su aprobación ha sido utilizado en más de 6000 productos consumidos directamente por los seres humanos. El aspartame es una combinación de fenilalanina y ácido aspártico que son dos aminoácidos. También se conoce por sus nombres comerciales de Equal y NutraSweet y es entre 180 y 220 veces más dulce que el azúcar. Es un polvo cristalino, inodoro y blanco.

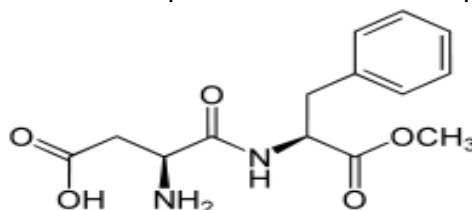


Figura 2.8a. Estructura del aspartame

Se puede encontrar en una amplia variedad de productos alimenticios preparadas (por ejemplo, bebidas gaseosas y de polvo, goma de mascar, dulces, gelatinas, mezclas para postres, pudines y rellenos, postres helados y yogur), edulcorante de mesa, y algunos medicamentos (por ejemplo, vitaminas y gotas para la tos sin azúcar).

2.4.1.2 Metabolismo

El dipéptido de aspartame (L-aspartil-L-fenilalanina metil éster) ha sido objeto de continua controversia. Debido a que contiene fenilalanina, la FDA ha ordenado dar al empaque una etiqueta de advertencia para impedir que personas con el desorden genético conocido como fenilcetonuria ingieran esta sustancia. El Instituto de Alimentos, Medicina y Nutrición no ha emitido niveles máximos de ingestión tolerable para cualquiera de los compuestos derivados del aspartato o fenilalanina sobre la base de datos disponibles y los modelos de exposición crónica (*Institute of Medicine*, 2005). La fenilalanina es un aminoácido usado como un bloque de construcción para las proteínas. Las personas que sufren de fenilcetonuria o que tienen cantidades insuficientes de la enzima fenilalanina hidroxilasa, necesaria para el desdoblamiento de la fenilalanina al no estar presente esta enzima en su organismo hace que la fenilalanina se acumule. La acumulación de fenilalanina puede alterar significativamente la función del cerebro humano (Whitehouse y col., 2008). Después de la ingestión, el aspartame o aspartamo se hidroliza en el lumen intestinal en sus componentes, el ácido aspártico, la fenilalanina y el metanol (Figura 2.8b). Estos componentes son absorbidos en la sangre y cada uno es metabolizado por separado (Whitehouse y col., 2008).

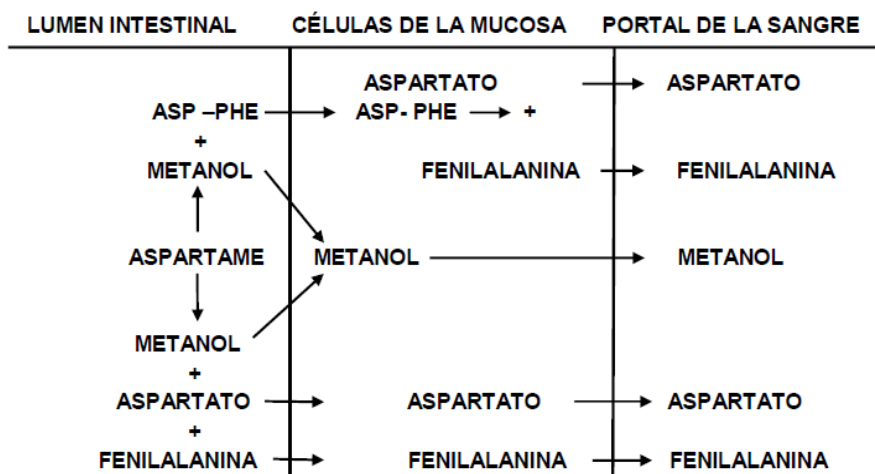


Figura 2.8b. Metabolismo del aspartame en el intestino (Stegink, 1987)

2.4.1.3. Toxicología

Una investigación reciente ha proporcionado evidencia de la posible carcinogenicidad de este compuesto. Esta investigación, utilizando ratas Sprague Dawley a nivel fetal, ha demostrado un aumento significativo de los tumores malignos en los organismos masculinos, un aumento en la incidencia de linfomas y leucemias en hembras y machos y un aumento en la incidencia de cáncer de mama en las hembras. Estos resultados refuerzan

y confirman investigaciones anteriores que también demostraron el potencial de carcinogenicidad del aspartame y el potencial de carcinogénesis aumenta si la exposición se produce durante la gestación. Es de destacar que la dosis ensayada se aproximó a la ingesta diaria admisible IDA, para los seres humanos (Soffritti y col., 2007).

En otra investigación que se realizó con el objeto de evaluar los efectos del aspartame sobre el aprendizaje y la memoria, empleando ratones albinos jóvenes de ambos sexos, donde el aprendizaje y la memoria se evaluaron a través de la observación y medición del número de equivocaciones y tiempo de recorrido, se elaboró un laberinto de madera donde se colocaban los ratones después de 12 horas de ayuno, el cual tenía señales de colores, que orientaban hacia el alimento que era la vía correcta y dos trampas, una de sonido intenso y otra de descarga eléctrica como castigo si tomaban vías incorrectas. Los resultados indican que el aspartame a partir de la dosis de 150 mg/100 g de masa corporal indujo cambios significativos en el aprendizaje y la memoria, tanto en ratones machos como hembras, puesto que hubo un significativo incremento en el tiempo de recorrido en el laberinto y el número de equivocaciones. Esto puede alertar sobre las posibles alteraciones neurológicas que puede ocasionar el consumo de aspartame (Sutil-de-N. y col., 2001).

2.4.2. ACESULFAME DE POTASIO

2.4.2.1. Historia

El acesulfame de potasio (o acesulfame K) fue descubierto en 1967 por el químico Karl Clauss. Fue aprobado en los Estados Unidos en 1988 para usos específicos, incluyendo un edulcorante de mesa. En 1998, la FDA aprobó el acesulfame-K para el uso en bebidas. En particular, se ha utilizado para disminuir el sabor amargo de aspartame. En 2003, fue aprobado para su uso general en alimentos, con exclusión de la carne o las aves de corral (FDA, 2010).

El acesulfame de potasio es un edulcorante artificial, conocido también como Sunett. Es termoestable y se puede emplear para cocinar y hornear. También está disponible como edulcorante de mesa, comercializado bajo el nombre de Sweet One. En Estados Unidos, como ya se dijo, está aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (*FDA*, por sus siglas en inglés) y se usa en combinación con otros edulcorantes, tales como la sacarina, en bebidas carbonatadas bajas en calorías y en otros productos. En su molécula tiene potasio (cuyo símbolo químico es K). Es un polvo cristalino, blanco y sin color y es 200 veces más dulce que el azúcar (Figura 28)

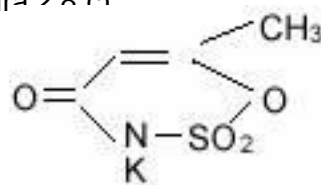


Figura 2.8c. Estructura del acesulfame o acesulfamo de potasio

Se puede encontrar en los productos horneados, postres congelados, dulces, bebidas, pastillas para la tos y pastillas para el aliento (Figura 2.8d).

Teniendo en cuenta el amargo regusto del acesulfame-K, se utiliza con frecuencia en la mayoría de los productos junto con otro edulcorante normalmente el aspartame o la sucralosa, que se mezclan con él para equilibrar el sabor. Los productos comunes que contienen únicamente Ace-K o una combinación de Asp-Ace-K y otros edulcorantes son: Coca Cola Light, Pepsi One/Pepsi Max, Coca-Cola Zero, Diet Coke con Splenda, goma de mascar Trident y jaletina⁵ o gelatina sin azúcar Jell-O (Whitehouse y col., 2008).

2.4.2.2. Metabolismo

Acesulfame-K es el nombre genérico de la sal de potasio (no “potásica”, ya que en química no hay compuestos “potásicos”), de 6-metil-1, 2,3-oxatiazin-4 (3H)-ona-2, 2, dióxido de carbono. El efecto sinérgico del acesulfame-K con la glucosa, fructosa, sucralosa aumenta su intensidad de dulzor. Según los autores Whitehouse y col. (2002), el acesulfame-K no es metabolizado por el cuerpo, sino que se excreta sin cambios. Sin embargo, otros autores señalan que sí participa en el metabolismo de la glucosa en paralelo con el incremento intracelular de la concentración de calcio, ocurriendo la asimilación en unos cuantos minutos, por un incremento de la GLUT2 apical, la cual se correlaciona con la regulación recíproca de T1R2, T1R3 y la alfa-gustoducina (*alpha-gustducina*) versus T1R1, transducina y fosfolipasa C-beta-2. Estos autores indican que este edulcorante, así como la sucralosa y la sacarina, son nutrimentalmente activos porque pueden señalar al sistema de recepción funcional para aumentar la absorción de glucosa durante una comida, lo que tiene, según ellos, una enorme implicación para la medición de los nutrientes en el tratamiento de la obesidad y la diabetes (Mace y col., 2007).

⁵ Jaletina es una especie de jalea fina y transparente, que se prepara generalmente cociendo cola de pescado con cualquier fruta, o con sustancias animales, y azúcar. Su sinónimo gelatina, del latín *gelātus*, helado, se define como una sustancia sólida, incolora y transparente cuando está pura, e inodora, insípida y notable por su mucha coherencia. Procede de la transformación del colágeno del tejido conjuntivo y de los huesos y cartílagos por efecto de la cocción

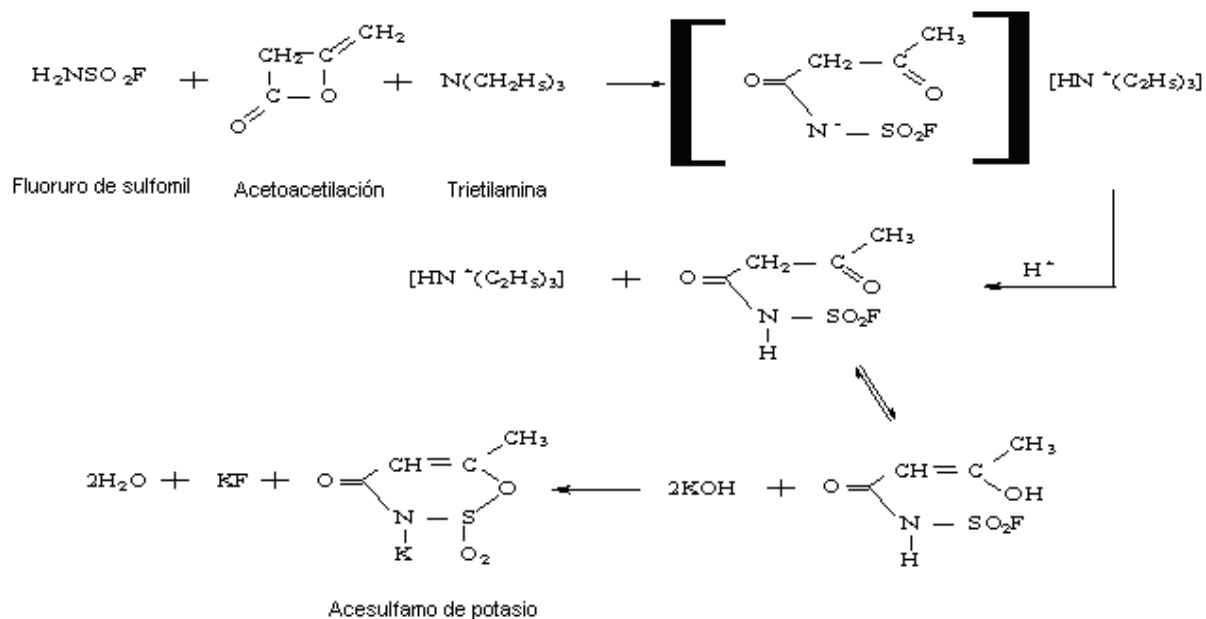


Figura 2.8d. Síntesis del acesulfame o acesulfame de potasio (Claus y col, 1986)

2.4.2.3. Toxicología

Se han publicado estudios citogenéticos sobre ratones que han ingerido acesulfame-K. Un estudio de la citogenicidad de este edulcorante se indica que cuando la dosis administrada a los ratones dentro de la IDA de 15 mg/kg de masa corporal, el número de errores cromosómicos no fue significativa en comparación con ratones control. Sin embargo, en dosis más altas (60, 450, 1100 y 2250 mg/kg), el acesulfame-K fue clastogénico⁶ y genotóxico. Por lo tanto, sus resultados demuestran de manera inequívoca que, dependiendo de la dosis, el acesulfame-K interactúa con el ADN para producir lesiones genéticas. Se recomiendan estudios adicionales sobre su genotoxicidad debido a la interacción potencial con el ADN a dosis altas. Sin embargo, las dosis capaces de producir daños son muy superiores a la IDA (O'Brien-Nabors y Gerald-C, 1991). Por ello resulta muy importante que las personas que lo consuman lleven una contabilidad diaria de su ingestión para no exceder este límite.

2.4.3. SACARINA

⁶ Palabra que no existe en el diccionario de la Real Academia Española pero que significa que los agentes químicos, clasificados como clastogénicos, son aquellos agentes físicos o químicos capaces de inducir roturas cromosómicas (<http://www.osman.es/ficha/11940>)

2.4.3.1. Historia

La sacarina fue el primer edulcorante artificial utilizado a gran escala. Fue descubierto casualmente, al igual que la mayoría de los edulcorantes artificiales. En 1879, Constantino Fahlberg durante una investigación, encontró una sustancia accidentalmente salpicándose en el dedo, que más tarde se lamió y notó que la sustancia tenía un sabor dulce, siendo esta la sacarina. La sacarina ha estado en uso desde 1900 y obtuvo la aprobación de la FDA en 1970 (FDA, 2010). Su estructura química se presenta en la Figura 2.9a y en la Figura 2.9b se muestra su síntesis.

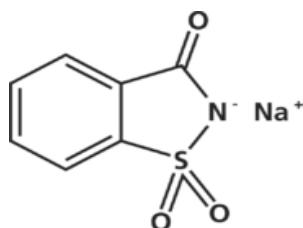


Figura 2.9a. Estructura de la sacarina

Este edulcorante es 300 veces más dulce que el azúcar y se utiliza en varios productos de bebidas y alimentos dietéticos. Es un polvo cristalino, blanco, inodoro (FDA, 2010). Se comercializa como Sweet'n-Low y se encuentra en diversos productos de bajas calorías, como los refrescos, productos horneados, dulces, goma de mascar, frutas en conserva, dulces, aderezos, postres y aderezos para ensaladas. La sacarina también se utiliza en los productos cosméticos (por ejemplo, pasta de dientes, enjuague bucal y brillo labial), así como en vitaminas y medicamentos (Whitehouse y col., 2008).

2.4.3.2. Metabolismo

La sacarina se forma por una reacción inicial entre tolueno y ácido clorosulfónico, que luego se convierte en una sulfonamida con el amoníaco y se oxida a ácido benzoico calentándolo para formar la imida cíclica. Biológicamente, según sus fabricantes, después de la ingestión la sacarina no se absorbe o metaboliza y se excreta sin cambios, a través de los riñones. Debido a este aserto de que la sacarina no se metaboliza, la FDA considera que ésta es un compuesto seguro.

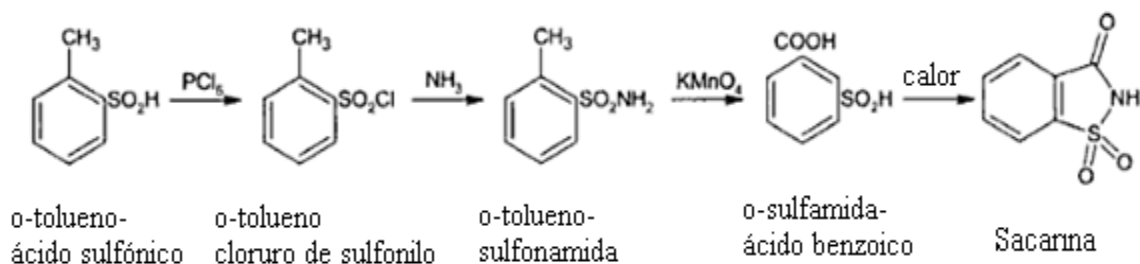


Figura 2.9b. Síntesis de la sacarina (Scribd, 2009)

Sin embargo, de acuerdo con los autores ya mencionados (Mace y col., 2007), sí participa en el metabolismo de la glucosa en paralelo con el incremento intracelular de la concentración de calcio, ocurriendo la asimilación en unos cuantos minutos, por un incremento de la GLUT2 apical, la cual se correlaciona con la regulación recíproca de T1R2, T1R3 y la alfa-gustoducina (*alpha-gustducina*) versus T1R1, transducina y fosfolipasa C-beta-2. Estos autores indican que este edulcorante, así como el acesulfame de potasio y la sucralosa, son nutrimentalmente activos porque pueden señalar al sistema de recepción funcional para aumentar la absorción de glucosa durante una comida, lo que tiene, para ellos, una enorme implicación para la medición de los nutrientes en el tratamiento de la obesidad y la diabetes.

2.4.3.3. Toxicología

En una comparación internacional, dada por la exclusión en Canadá de la sacarina de la lista de aditivos permitidos, el Comité Mixto FAO / OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) ha revisado los datos toxicológicos sobre la sacarina en varias ocasiones. El JECFA concluyó en 1993 que "sobre la base de datos revisados hasta la fecha, no sería apropiado considerar los tumores de vejiga en ratas macho inducidos por la sacarina de sodio, como pertinentes para la evaluación de un riesgo toxicológico para el ser humano" y en la 41ª reunión en 1993, se estableció para el consumo de sacarina y sus sales una IDA de 0-5 mg/kg de masa corporal. En junio de 1995, el Comité Científico de la Comisión Europea sobre los alimentos revisó los datos disponibles hasta el momento para la sacarina y aprobó una IDA de 0-5.0 mg/kg de sacarina de sodio (no "sódica", ya que no hay compuestos químicos "sodosos") o de 0-3.8 mg/kg de masa corporal como sacarina en forma de ácido. En octubre de 1998, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) bajó a la sacarina como carcinógena de Categoría IIB (posiblemente carcinogénico para los humanos) a carcinógeno de Categoría III (no clasificable en cuanto a su carcinogenicidad en humanos), con base en una re-evaluación de los datos experimentales obtenidos con animales de laboratorio. Esta categoría se utiliza para los

agentes de los que hay una fuerte evidencia, consistente en que el mecanismo de carcinogenicidad en animales de experimentación no funciona para los seres humanos o que a partir de ellos no se puede predecir el riesgo carcinogénico en seres humanos. En mayo de 2000, el Programa Nacional de Toxicología de EEUU (*NTP*, en inglés) eliminó a la sacarina de su lista de productos químicos sospechosos como causante de cáncer, indicando que los estudios no mostraban una asociación clara entre la sacarina y el cáncer humano. Por ello, Health Canada (2007) propuso que se aceptara su consumo como endulzante para alimentos en Canadá estableciendo en su documento cantidades máximas para algunos alimentos.

2.4.4. SUCRALOSA

2.4.4.1. Historia

La sucralosa fue descubierta accidentalmente en 1976, cuando Tate y Lyle, una compañía azucarera británica estaba buscando formas de utilizar la sacarosa como producto químico intermedio. En colaboración con la Universidad Real (*King's University*) en Londres, estaban siendo sintetizados y probados algunos azúcares halogenados. Un estudiante de posgrado, malinterpretando una solicitud de "prueba" de un azúcar con cloro como una solicitud de "degustación", condujo al descubrimiento de que muchos azúcares clorados son dulces, con potencias de varios cientos o miles de veces mayor que la sacarosa (Whitehouse y col., 2008).

La sucralosa (cuya marca comercial es Splenda) es un edulcorante artificial hecho mediante la cloración del azúcar y es 600 veces más dulce que éste. Es termoestable y se puede utilizar en pastelería. Se emplea en muchos productos de bebidas y alimentos dietéticos. Es un polvo cristalino, inodoro, blanco (O'Brien-Nabors y Gelardi, 1991). Fue aprobada por la FDA en 1998 para su uso en 15 categorías de alimentos, incluyendo un edulcorante de mesa bajo la marca Splenda. Se usa en bebidas, goma de mascar, postres congelados, jugos de frutas y gelatinas. En 1999, la FDA amplió su uso como edulcorante de uso general en todos los alimentos (Figuras 2.10a, 2.10b).

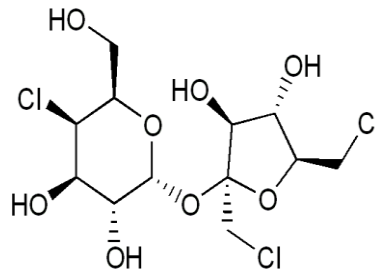


Figura 2.10a. Estructura de la sucralosa

2.4.4.2. Metabolismo

La sucralosa es una molécula de sacarosa en el que tres de sus hidrógenos han sido reemplazados por átomos de cloro. Aunque la sucralosa se elabora a partir de azúcar de mesa, según sus fabricantes, no aporta calorías porque no se digiere en el cuerpo. Según ellos, la mayoría de la sucralosa administrada por vía oral a ratones, ratas, perros y seres humanos pasa por el tracto gastrointestinal y se elimina en las heces sin cambios. No se dan referencias bibliográficas de estos experimentos ni de cómo se realizaron. Se tiene, sin embargo, el artículo ya mencionado de Mace y colaboradores (2007), donde se menciona su efecto en la absorción de la glucosa que podría tener efectos en las dietas de diabéticos y obesos.

2.4.4.3. Toxicología

Según Whitehouse y col. (2008), los estudios sobre la sucralosa muestran pocos efectos tóxicos. El hallazgo más significativo es uno sobre la reducción de tamaño en el timo con dietas que contenían 5% de sucralosa. La revisión y evaluación de los datos, incluido un estudio especial de inmunotoxicidad, demostró que los cambios del timo no eran una manifestación de la toxicidad intrínseca, sino más bien una exacerbación del proceso normal de involución que resulta de un déficit nutricional de la ingesta de alimentos (Grice y Goldsmith, 2000). Otro estudio asoció migrañas en humanos con el consumo de sucralosa (Bigal y Krymchantowski, 2006). Y, naturalmente, aparece también en el estudio de Mace y colaboradores (2007), con efectos similares a los del acesulfame de potasio en la mayor absorción de la glucosa ingerida con la dieta.

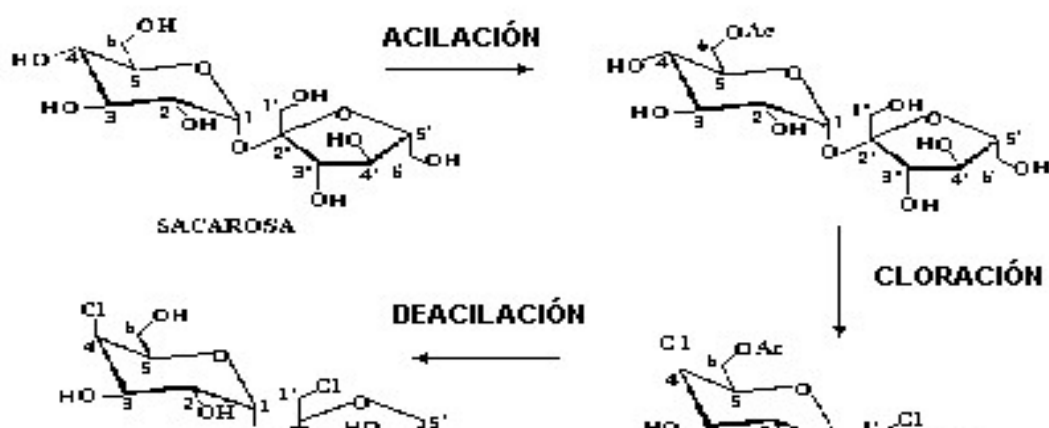


Figura 2.10b. Síntesis de la sucralosa (Gutiérrez-Moreno y Carro-Suárez, 2005)

2.4.5. SAL DE ASPARTAME-ACESULFAME (E962)

Es una mezcla de sales de edulcorantes autorizada por la FDA, con aspartame y acesulfame de potasio. Se fabrica a partir de estas dos sustancias reemplazando el ion potasio del acesulfame por aspartame (Figura 2.11). La sal de aspartame-acesulfame es un edulcorante que intensifica el sabor dulce que provee cada uno de los edulcorantes de los que proviene. En masa, dicha sal consiste en un 64% de aspartame por un 36% de acesulfamo. La sal de aspartame-acesulfame es aproximadamente 350 veces más dulce que el azúcar. En el cuerpo humano, según sus fabricantes, la sal se disocia en aspartame y acesulfame.

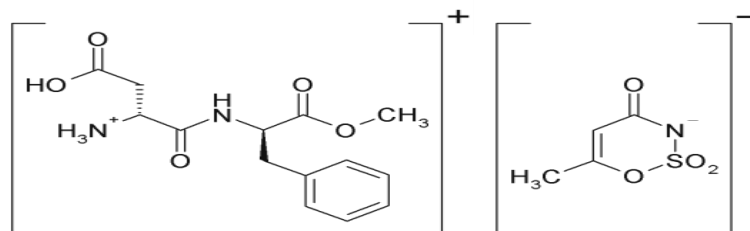


Figura 2.11. Estructura química de la mezcla de sales aspartame-acesulfame

El aspartame es digerido y metabolizado en el cuerpo, mientras que el acesulfame, según los fabricantes, no es metabolizado y se excreta a través de los riñones, aunque aquí debe tenerse en cuenta la referencia ya citada (Mace y col., 2007). Debido a su intenso dulzor, las cantidades a usar son tan pequeñas que puede considerarse la sal de aspartame-acesulfame como libre de calorías según sus fabricantes. La sal de aspartame-acesulfame se puede usar básicamente en aplicaciones en las que también se pueda utilizar aspartame o acesulfame-K. No es higroscópica y tiene un sabor similar al del azúcar. Varios estudios muestran que con mezclas particulares de acesulfame-K y otros edulcorantes se perciben propiedades sensoriales agradables, como es el caso de la mezcla acesulfame-K con aspartame (1:1).

Esta mezcla provoca un gran efecto sinérgico que se ve reflejado en el dulzor. Dicha mezcla es aproximadamente 100 veces más dulce que una solución de sacarosa. Según la International Sweeteners Association, señalan que el JECFA acepta que las fracciones de aspartame y acesulfame presentes en la sal esté comprendidas en los valores de ingesta diaria admisible establecidos previamente para el aspartame (0-40 mg/kg masa corporal d) y el acesulfame de potasio (0-15 mg/kg masa corporal) (ISA, 2011). No se encontró un valor máximo permisible de la mezcla, considerando que hubiera un efecto sinérgico.

2.5. EFECTOS SECUNDARIOS DE LOS EDULCORANTES

El azúcar suministra energía (la necesaria para todas las funciones metabólicas). Existe preocupación acerca de que el azúcar o los edulcorantes energéticos pueden causar caries dentales. La fructosa, derivada de la hidrólisis de los almidones de maíz a glucosa y de la inversión de ésta a fructosa, ampliamente producida después del bloqueo a Cuba que impidió a los ciudadanos de EEUU tener azúcar de caña, se ha asociado en los últimos años a la obesidad y al síndrome metabólico (Aeberli y col., 2007; Hofmann y Tschöp, 2009, Johnson y col., 2007, 2010; Sánchez-Lozada y col., 2007).

Los edulcorantes hipoenergéticos están siendo revisados en muchas investigaciones ya que, además de los efectos secundarios por el consumo de aspartame para fenilcetonúricos, parecen tener efectos que apenas empiezan a aparecer en estudios científicos como los que señalan que su presencia aumenta la absorción de la glucosa en el tracto digestivo de manera específica o que produzcan daños en otras partes del organismo, como la migraña (Bigal y Krymchantowski, 2006; Dyer y col., 2007; Mace y col., 2007).

2.5.1. INGESTA DIARIA ADMISIBLE (IDA)

Se han establecidos normas y reglamentos en los Estados Unidos y otros países cuyos ciudadanos consumen grandes cantidades de edulcorantes artificiales. La ingesta diaria admisible, IDA, ya mencionada en los rubros anteriores, se calcula de acuerdo con la investigación de seguridad vigente. La IDA se define como una ingesta a la que "los individuos en una población puede estar expuesta todos los días durante su vida sin riesgo apreciable para la salud", según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2004). La IDA se calcula dividiendo la dosis máxima a la que un estudio no ha demostrado un efecto negativo en estudios con animales. Por ejemplo, si un estudio reveló una dosis de 500 mg no produjo efectos tóxicos en los animales, este número se divide por 100 para calcular la

IDA. El resultado calculado de 5 mg es la IDA. En la Tabla 2.1 se observa el IDA recomendado para los edulcorantes.

Tabla 2.1. Valores de la ingesta diaria admisible IDA, recomendada para humanos de edulcorantes

Edulcorante	IDA FDA mg/kg d (2011)	IDA JECFA mg/kg d (2011)	IDA UNION EUROPEA (UE) mg/kg d (2011)
Aspartame	50	40	40
Acesulfame K	15	15	9
Sacarina	5	5	5
Sucralosa	15	15	15
Sal de Asp-Ace K	-	-	-
Fructosa	-	-	-
Sacarosa	-	-	-

Para los dos edulcorantes energéticos, azúcar, fructosa y sal de Asp-Ace K no hay límites máximos permitidos (Torresani y col., 2001)

2.5.2. VÍAS BIOLÓGICAS PARA EL METABOLISMO DE LOS EDULCORANTES NATURALES

La glucosa ocupa una posición central en el metabolismo de plantas y animales. Es el combustible de los organismos de estos reinos, oxidándose completamente a dióxido de carbono y agua produciendo 2.84 kJ/mol. En el caso de las plantas se almacena en forma de polímero de elevada masa molecular, como el almidón o la celulosa y en los animales como glucógeno. Una célula puede acumular grandes cantidades de unidades de hexosa, al tiempo que mantiene una osmolaridad citosólica relativamente baja. Cuando las necesidades energéticas de la célula aumentan, la glucosa puede liberarse a partir de estos polímeros de almacenamiento y utilizarse para producir ATP, ya sea aerobia o anaerobiamente (Lehninger y col., 2006). El estudio completo de los destinos metabólicos de la glucosa abarca cientos o miles de transformaciones. En las plantas y animales superiores la glucosa tiene tres destinos principales. Puede ser almacenada (en forma de polisacáridos o de sacarosa), oxidada a un compuesto de tres carbonos (piruvato) vía glucólisis para proporcionar ATP e intermediarios metabólicos u oxidada por la ruta de las pentosas fosfato (fosfogluconato) para obtener ribosa 5-fosfato y NADPH para los procesos biosintéticos reductores (Figura 2.12a).

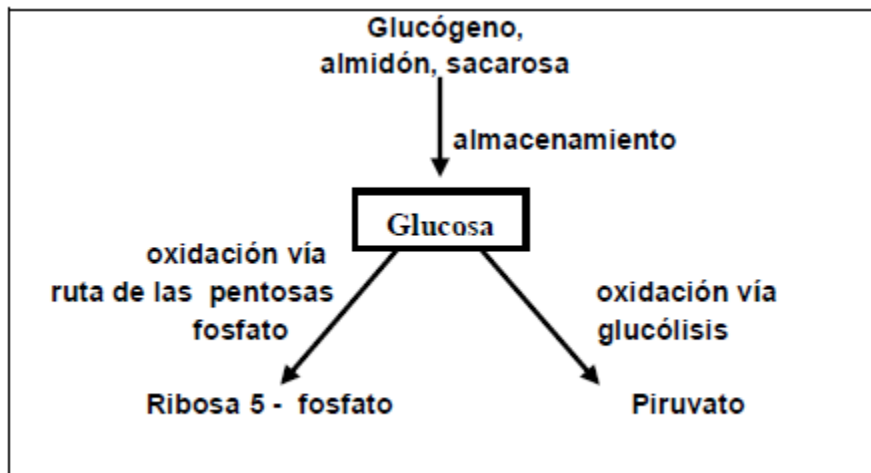


Figura 2.12a. Principales rutas de utilización de la glucosa (Lehninger y col., 2006)

2.5.2.1. Glucólisis

En la glucólisis (que del griego glykys, significa dulce y lysis que significa romper) se degrada una molécula de glucosa en una serie de reacciones catalizadas enzimáticamente, durante la secuencia de reacciones de la glucólisis, parte de la energía libre cedida por la glucosa se conserva en forma de ATP y NADH.

La glucólisis anaerobia es un proceso en el que se convierte la glucosa ($C_6H_{12}O_6$) en dos moléculas de piruvato para formar dos moléculas netas de ATP. La reacción global de la glucólisis es $C_6H_{12}O_6 + 2NAD^+ + 2ADP + 2P \rightarrow 2 \text{ piruvato} + 2ATP + 2NADH + 2H^+$. Las dos moléculas de piruvato que se producen durante la glucólisis entran en la mitocondria para producir energía a través de la respiración oxidativa. El mantenimiento de los niveles de glucosa en la sangre en el torrente sanguíneo se lleva a cabo por la insulina y el glucagón. Ambos son secretados por el páncreas. El glucagón se libera durante la baja de los niveles de glucosa en la sangre para inducir a que el hígado libere glucosa a la sangre, la insulina se libera en los altos niveles de glucosa en la sangre para inducir a las células de grasa para absorber la glucosa de la sangre (Lehninger y col., 2006).

2.5.2.2. Gluconeogénesis

Es la ruta metabólica por la que se sintetiza glucosa a partir de precursores que no son glúcidos, lactato (formado en músculo), glicerol (proveniente de la degradación de triglicéridos), aminoácidos a excepción de leucina y lisina (provenientes de la dieta o de degradación de proteínas en músculo).

En animales, los ácidos grasos provenientes de la degradación de triglicéridos no pueden producir glucosa porque el acetil CoA no puede ser convertido en piruvato.

La necesidad de la gluconeogénesis es debida a que las células del cerebro y los eritrocitos dependen casi exclusivamente de glucosa como fuente de energía. Las reservas de glucosa en forma de glucógeno en el hígado sólo bastan para unas horas de ayuno. Durante el ayuno o periodos de ejercicio intenso la mayor parte de las necesidades de glucosa del organismo se cubren por la gluconeogénesis (Figura 2.12b).

La regulación recíproca de glucólisis y gluconeogénesis indica que las dos rutas son altamente exergónicas bajo condiciones fisiológicas, por lo que podrían estar funcionando simultáneamente, como resultado final de consumo de 2 ATP y 2 GTP por cada ciclo de la reacción. Sin embargo, las concentraciones y actividades de las enzimas clave de ambas rutas se regulan en forma recíproca, de manera que cuando una está activa no lo está la otra (Lehninger y col., 2006).

2.5.2.3. Glucógeno

El glucógeno es el polisacárido de reserva más importante en la células animales, es un polímero con subunidades de glucosa unidas por enlaces (α 1,4) y con ramificaciones del tipo (α 1,6), tiene al menos de 8 a 12 residuos. El glucógeno es especialmente abundante en el hígado, donde puede llegar a representar el 7% de su masa húmeda, aunque también se encuentra en el músculo esquelético. En los hepatocitos el glucógeno está en forma de gránulos de gran tamaño, que son a su vez agrupaciones de gránulos más pequeños, compuestos por moléculas individuales y altamente ramificadas de glucógeno con una masa molecular de varios millones. Los gránulos de glucógeno también contienen, íntimamente unidas, a las enzimas responsables de la degradación. Puesto que cada rama de glucógeno termina con un sacárido reductor, una molécula de glucógeno tiene tantos extremos reductores como ramas, pero solamente un extremo reductor (Figura 2.12c).

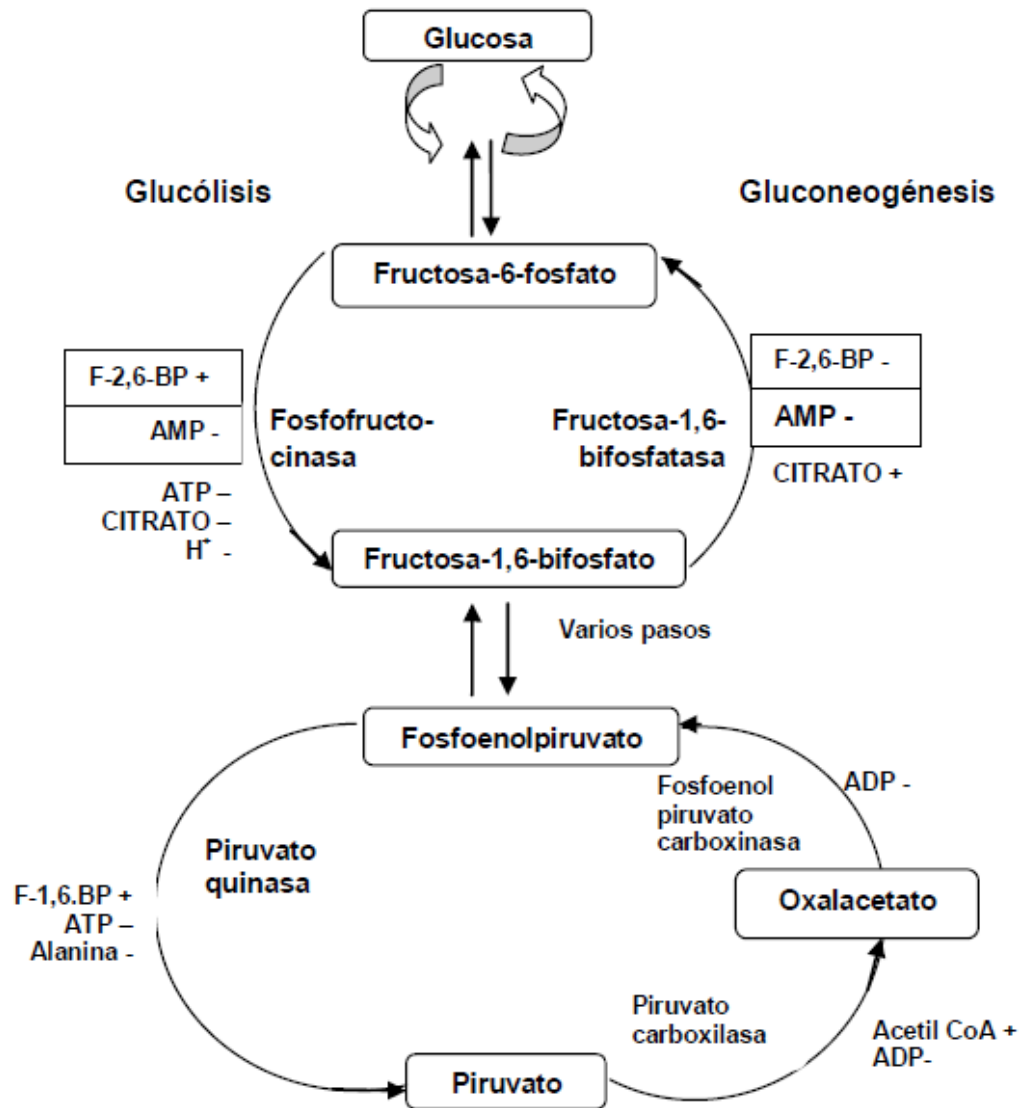
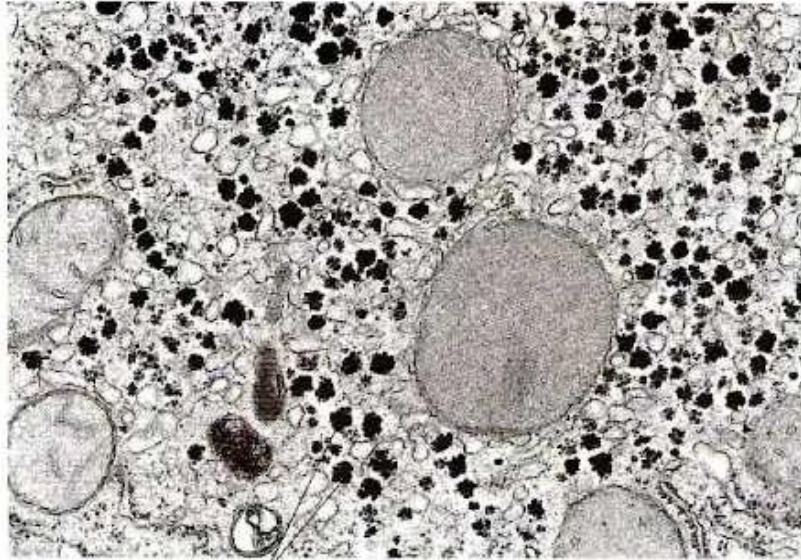


Figura 2.12b. Glucólisis y gluconeogénesis (Lehninger y col., 2006)



Gránulos de glucógeno

Figura 2.12c. Gránulos de glucógeno en un hepatocito; estos gránulos se forman en el citosol y son mucho más pequeños ($\approx 0.1 \mu\text{m}$) (Lehninger y col., 2006)

2.6. EFECTOS DE LOS EDULCORANTES

2.6.1. PROTEÍNAS DE UNIÓN AL ELEMENTO DE RESPUESTA A ESTEROLES (*SREBP*)

Las proteínas de unión al elemento de respuesta regulatoria a esteroides (*SREBP*; *Sterol-Regulatory Element Binding Proteins*) constituyen una familia de factores de transcripción que coordinan el metabolismo lipídico del organismo. En la mayoría de tejidos humanos, *SREBP1c* es la isoforma predominante, variando la expresión de relativa de *SREBP1c* y *SREBP1a* entre 3:1 en adipocitos y 10:1 en el hígado. Los niveles de *SREBP1c* son especialmente elevados en hígado, tejido adiposo, músculo esquelético, glándula adrenal y cerebro. Por su parte, la isoforma *SREBP1a* se expresa preferentemente en líneas celulares y en tejidos con alta capacidad de proliferación como bazo o intestino. La insulina también induce la expresión de *SREBP1c* en tejido adiposo y músculo de humanos. Los efectos de la insulina sobre la transcripción de *SREBP1c* son opuestos a los que ejerce el glucagón vía cAMP. En estado de ayuno, los niveles de insulina circulantes son bajos por lo que los niveles de expresión de *SREBP1c* en el hígado son bajos. Tras la ingesta, la insulina ejerce un efecto agudo induciendo el procesamiento de la forma madura de *SREBP1c*.

El mecanismo molecular de la inducción del procesamiento por insulina no se conoce, pero podría deberse a un rápido cambio conformacional o a la degradación de alguna proteína implicada en esta regulación. De esta forma, la insulina promueve tanto la expresión de *SREBP1c* como su procesamiento y liberación de la forma madura. La necesidad de

insulina para inducir el procesamiento de *SREBP1c* a corto y largo plazo asegura que la lipogénesis ocurrirá sólo en situaciones de glucemia elevada. La inducción de la forma precursora de *SREBP1c* tal vez sirva para permitir una rápida respuesta metabólica a la insulina ante la fluctuación en el aporte energético diario.

Este complejo mecanismo de regulación sugiere que variaciones en los niveles de *SREBP*, podrían causar un desajuste en estos circuitos homeostáticos alterando la estrecha ventana en la que el procesamiento de *SREBP* es regulado por cambios en el estatus nutricional y por estímulos hormonales y, de este modo, condicionar el desarrollo de patologías como DM2, obesidad o dislipidemias.

La familia *SREBP* en conjunto controla el metabolismo lipídico regulando genes implicados en las rutas de síntesis y captación de colesterol, síntesis de ácidos grasos, triglicéridos y fosfolípidos y genes que controlan el metabolismo glucídico. Los lípidos, además de servir como fuente de energía, forman parte de las membranas celulares y son precursores de moléculas como hormonas esteroideas, vitaminas, ácidos biliares o eicosanoides que participan en numerosos procesos biológicos tan relevantes como el control del ciclo celular, procesos inflamatorios o rutas de transducción de señal. Por este motivo existe un creciente interés por conocer la función específica de cada isoforma de *SREBP* en estos procesos. A continuación se describirán algunas de estas funciones en distintos tejidos (Vernia-Miralles, 2007).

2.6.1.1. Hígado

En mamíferos, el hígado es el órgano más activo en la síntesis lipídica. Además de colesterol, el hígado sintetiza grandes cantidades de ácidos grasos no sólo para sus propias membranas, sino también para exportarlos a otros tejidos en forma de lipoproteínas, L. Los *SREBP* participan en ambos procesos. En el hígado, la isoforma *SREBP1c* participa en la inducción transcripcional por insulina de glucoquinasa, que es necesaria para la utilización hepática de glucosa. Paralelamente, *SREBP1c* induce genes imprescindibles para la síntesis, elongación y desaturación de ácidos grasos, así como para su incorporación a la síntesis de fosfolípidos y triglicéridos como la glicerol-3-fosfato aciltransferasa. La fluctuación en los niveles de insulina en la transición del estado de ayuno a la ingesta provoca que el hígado adapte su metabolismo de gluconeogénesis/cetogénesis a glucólisis/lipogénesis.

El descubrimiento de que la insulina aumenta la expresión de *SREBP1c* fue la primera evidencia de que este factor podría participar en estos procesos metabólicos. La participación de *SREBP1c* en la síntesis de colesterol es minoritaria, pero interviene en la captación de lipoproteínas de baja densidad o LDLc, por sus siglas en inglés, regulando directamente la expresión del receptor de LDL (Vernia-Miralles, 2007).

Por último y no por ello menos importante, los *SREBP* activan genes como ATP citrato liasa, enzima málica, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y 6- fosfogluconato deshidrogenasa, implicados en la generación de *NADPH* que es necesario para la síntesis de ácidos grasos y colesterol. Por su parte, la isoforma *SREBP1a* es mucho más activa transcripcionalmente que la isoforma 1c. (Figura 2.13a).

2.6.1.2. Tejido adiposo

SREBP1c es el transcrito predominante en el tejido adiposo de ratón y humano. Recientemente se ha demostrado que *SREBP1c* regula directamente la expresión de GLUT-4 en tejido adiposo durante la transición ayuno/ingesta o en ratas diabéticas por STZ (Estreptozotocina) tratadas con insulina. *SREBP1c* también se ha implicado en la inducción directa o indirecta de genes específicos de tejido adiposo como la proteína de unión a ácidos grasos aP2 (*Fatty acid-binding protein*, aP2), adiposina y lipoproteína lipasa y de otras enzimas necesarias para la lipogénesis adipocitaria como glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, ATP-citrato liasa, acetil coenzima A carboxilasa, ácido graso sintasa, y glicerol 3-fosfato acil transferasa.

También participa en la expresión del tejido adiposo del receptor de LDL o de la leptina. Sorprendentemente, la sobreexpresión de *SREBP1c* en tejido adiposo inhibe la diferenciación adipocitaria resultando en un síndrome lipodistrófico con pérdida de tejido adiposo y aumento de la deposición grasa en el hígado probablemente debido a una desviación de ácidos grasos libres hacia este órgano y al estado de hiperinsulinemia que favorecería la lipogénesis *de novo* hepática (Vernia-Miralles, 2007).

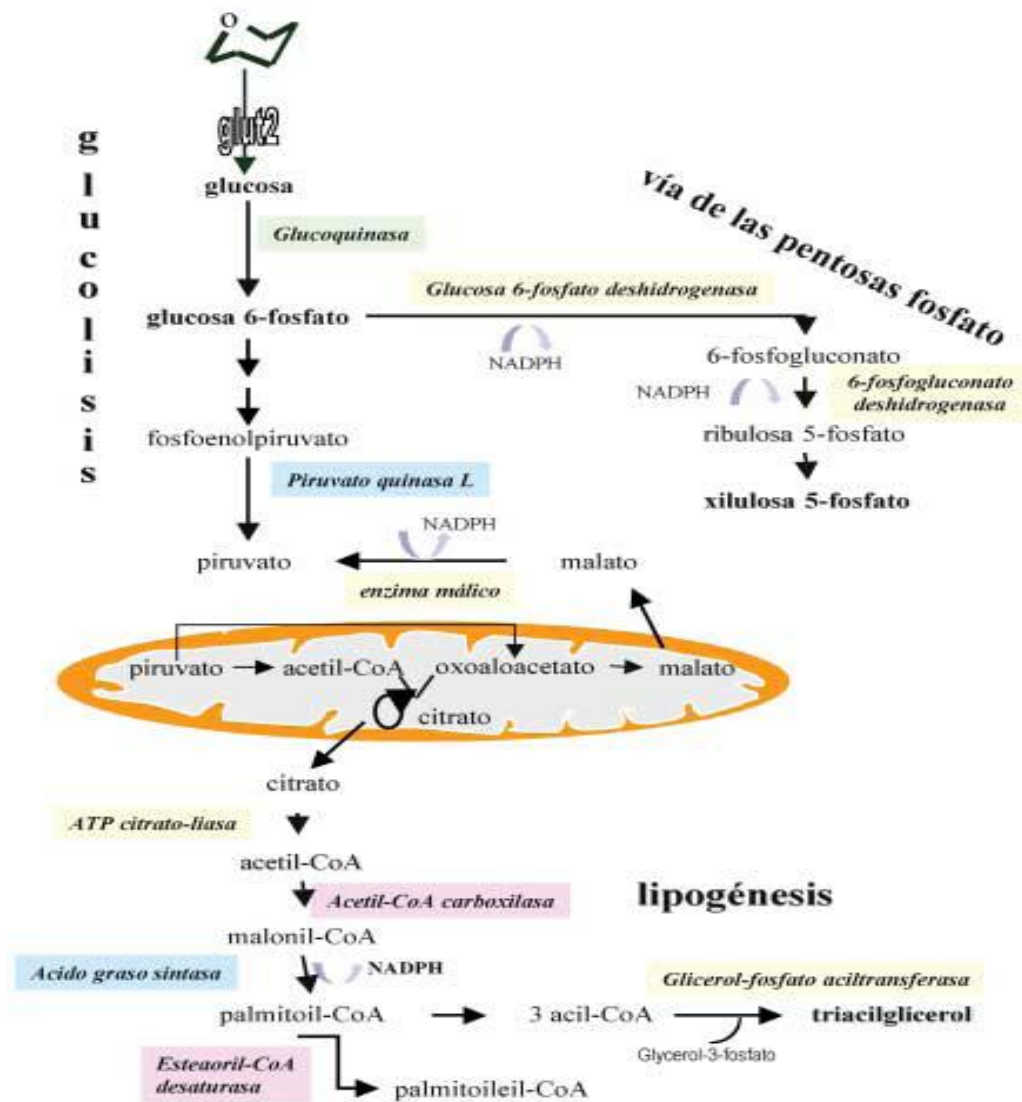


Figura 2.13a. Descripción de las rutas metabólicas inducidas por las proteínas SREBP1c en hígado (Casado-Pinna, 2009)

2.6.1.3. Páncreas

Se ha demostrado que SREBP1c puede alterar la señalización de insulina, el mayor mediador de señal de insulina en células β . De hecho la sobreexpresión de SREBP1c en células β bajo un promotor de insulina se ha utilizado en ratones transgénicos como modelo de lipotoxicidad por generación de ácidos grasos endógenos. En islotes pancreáticos de rata se ha demostrado que los fenómenos de glucolipotoxicidad generan un estrés en el retículo endoplásmico de la célula β que provoca la activación de SREBP1 y secundariamente la acumulación lipídica, disminución de la secreción de insulina estimulada por glucosa, apoptosis y disminución en la expresión de genes como IRS-2, Bclx1 o Pdx1. Además, SREBP1c tiene un efecto directo induciendo la granofilina, un componente crucial de la maquinaria de ensamblaje de las vesículas que contienen insulina a la membrana

plasmática de las células β pancreáticas y de su exocitosis. Recientemente se ha demostrado expresando granofilina en islotes mediante vectores adenovirales o en ratones transgénicos que sobre-expresan SREBP1c específicamente en células β , que una estimulación de esta ruta disminuye la secreción de insulina estimulada por potasio.

La disminución o la supresión de los niveles de SREBP1c o de granofilina restituían la secreción de insulina estimulada por potasio. Por tanto, independientemente de su implicación en fenómenos de β lipotoxicidad, SREBP1c podría participar directamente en la alteración de la secreción de insulina. La activación de SREBP1c disminuye la expresión de otros componentes de la maquinaria secretora de insulina, como syntaxina-1a o Munc18-1, aunque estos fenómenos todavía no están caracterizados.

La disminución en la secreción de insulina estimulada por glucosa, característica de la diabetes mellitus tipo II es debida a la disminución en la relación ATP/ADP debido al deterioro en el metabolismo de la glucosa y a la disminución en la producción de insulina en las células β .

En modelos de diabetes mellitus tipo II también pueden existir alteraciones en la fase de secreción de insulina a través del deterioro en la secreción de insulina estimulada por potasio. *SREBP1c* podría estar implicado en ambos fenómenos ya que un excesivo aumento en su expresión puede contribuir a alteraciones en la producción de ATP conduciendo a un deterioro en la secreción de insulina estimulada por glucosa y, a su vez, a un aumento en la expresión de granofilina, conduciendo a una atenuación en la secreción de insulina estimulada por potasio.

Aunque todavía se necesitan más estudios para conocer su verdadera función en la homeostasis β pancreática, parece claro que SREBP1c es un factor importante en el control de la expresión y secreción de insulina, así como en fenómenos de glucolipotoxicidad y disfunción β pancreática (Vernia-Miralles., 2007).

En el siguiente diagrama se muestra la interacción del gen con los diferentes órganos (Figura 2.13b).

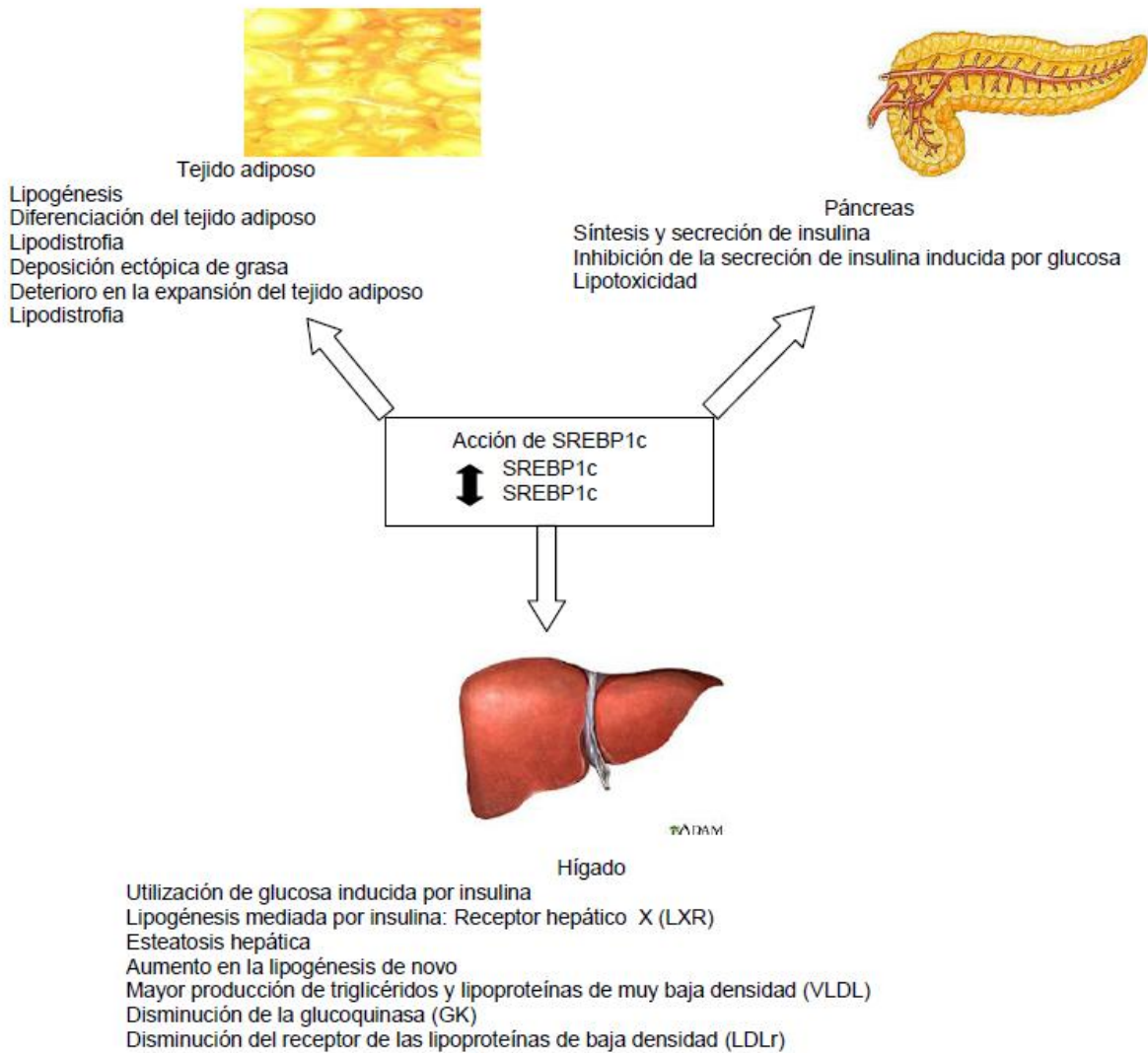


Figura 2.13b. Representación esquemática de la función fisiológica *SREBP1c* en distintos tejidos (Vernia-Miralles, 2007)

2.6.2. PROTEÍNA LIGANTE CON ELEMENTOS DE RESPUESTA A HIDRATOS DE CARBONO (*CHREB*, *Carbohydrate Response Element-Binding Protein*, en inglés)

La regulación del metabolismo implica no sólo una rápida modulación en la actividad de proteínas específicas, sino también un control de su síntesis a través de la regulación transcripcional de sus genes. La glucosa, el monosacárido más abundante en la naturaleza, proporciona un buen ejemplo de cómo los organismos han desarrollado mecanismos que les permitan hacer frente a una disponibilidad de nutrientes variable. En mamíferos, la respuesta a la glucosa es compleja, ya que combina los efectos relacionados con el metabolismo *per se* de la glucosa con aquellos derivados de las modificaciones hormonales

dependientes de glucosa, principalmente la estimulación pancreática de la secreción de insulina y la inhibición de la secreción de glucagón (Postic y col., 2007).

La glucosa entra en el hígado por un mecanismo de transporte facilitado utilizando el transportador de glucosa GLUT-2. Este transportador se caracteriza por su baja afinidad por la glucosa y por una velocidad de transporte alta y simétrica, es decir, idéntico en el sentido de entrada y salida de glucosa. Esta última propiedad es la que explica la importancia de la expresión de GLUT-2 en tejidos secretores de glucosa, permitiendo un rápido equilibrio entre las concentraciones intracelulares y extracelulares de glucosa, en particular en condiciones gluconeogénicas. Después de su entrada en el hígado, la glucosa debe ser metabolizada para generar una señal intracelular que permita la regulación transcripcional. El primer paso de su metabolismo es la fosforilación por la glucoquinasa (*GK*), generando glucosa 6-fosfato (Glu-6P). El metabolismo de la glucosa, vía glucocinasa (*GK*), es esencial para la máxima inducción de la expresión hepática de genes glucolítico/lipogénicos. El metabolito exacto que transmite la señal no ha sido aún claramente identificado. Para que un metabolito sea considerado como la molécula que transmita la señal de la glucosa, debe cumplir como requisito que su concentración varíe proporcionalmente a la concentración extracelular de glucosa. Hay varias líneas de evidencias que demuestran que dicho papel es llevado a cabo por la Glu-6P (Postic y col., 2007):

- En líneas celulares de insulinoma y en tejido adiposo, el efecto inductor de la glucosa sobre la expresión génica es mimetizado por 2-desoxiglucosa, un análogo del monosacárido que tras su fosforilación a 2-desoxiglucosa-6-fosfato se acumula en el interior de la célula y
- La concentración y cinética de acumulación intracelular de Glu-6P varía en paralelo con la expresión génica.

La Glu-6P participa posteriormente en varias vías metabólicas (síntesis de glucógeno, glucólisis, la vía de las pentosas fosfato y la síntesis de hexosaminas). La transmisión de la señal de glucosa a la maquinaria transcripcional implica una serie de cascadas de fosforilación/desfosforilación. Cuando disminuyen los niveles de glucosa en sangre, se produce un aumento concomitante de glucagón, lo que supone un incremento en los niveles de AMP cíclico (AMPC) en los hepatocitos (Casado-Pinna, 2009).

La mayoría de los genes glucolítico/lipogénicos son regulados por la glucosa. En un intento de caracterizar nuevos factores de transcripción capaces de unirse al elemento de respuesta a glucosa del gen de la Piruvato cinasa, purificaron e identificaron una nueva proteína, a la

que denominaron *ChREBP* por sus siglas en inglés (*proteína de unión al elemento de respuesta a hidratos de carbono*) que parecía un buen candidato a ser el verdadero responsable de la regulación de la transcripción dependiente de glucosa, ya que era activo en una dieta rica en hidratos de carbono y se inhibía por ayuno o por una dieta rica en lípidos. *ChREBP* se expresa en hígado, riñón, cerebelo e intestino, aunque sólo en el hígado se ha podido detectar su unión al elemento de respuesta a glucosa. *ChREBP* contiene dos sitios principales de fosforilación por AMPc, que se regulan por mecanismos de fosforilación/desfosforilación mediado por AMPc y glucosa. Varios investigadores pusieron de manifiesto que el mecanismo de inhibición de *ChREBP* y, por consiguiente, la inhibición de la transcripción del gen de la piruvato quinasa hepática, parecía ser mediado por la fosforilación por medio de AMPK. Los ácidos grasos eran capaces de activar la quinasa al elevar los niveles de AMP tras su activación por la acil-coA sintetasa. La fosforilación disminuye la unión del factor *ChREBP* al elemento de respuesta del promotor de la piruvato cinasa. El papel esencial de *ChREBP* en la regulación de la expresión génica por glucosa de enzimas glucolítico/lipogénicos como piruvato cinasa, ácido graso sintasa, ha sido demostrado *in vivo* con la generación de animales ganadores para este factor de transcripción. En hepatocitos aislados de ratones *ChREBP*, la glucosa no es capaz de aumentar los niveles de ARNm de genes lipogénicos, incluso en presencia de una concentración de insulina elevada. En el hígado de estos ratones, la expresión de *SREBP-1c* no se encuentra alterada si se compara con la de los ratones control, por lo que la deficiencia de expresión de los genes lipogénicos se debe exclusivamente a la ausencia del factor *ChREBP*. Estos resultados demuestran claramente que, en ausencia de *ChREBP*, no existe ningún otro factor en el hígado que sea capaz de reemplazar a este factor para activar los genes glucolítico/lipogénicos en respuesta a glucosa (Postic y col., 2007).

Se ha experimentado un gran progreso en los últimos años con, el *SREBP-1c* y *ChREBP* para explicar las bases moleculares de la inducción génica por medio de la glucosa. Tras la ingesta de una dieta rica en hidratos de carbono, la glucosa estimula la secreción pancreática de la insulina elevándose de este modo la concentración hepática de la hormona. Ello conduce a la inducción de la expresión y activación del factor *SREBP-1c* que, una vez en el núcleo, promoverá la inducción del gen de la glucocinasa GK. La síntesis de la glucocinasa incrementará la fosforilación de la glucosa generando la señal intermediaria (glucosa 6-fosfato, xilulosa 5-fosfato u otro metabolito aún sin identificar) que conducirá a la desfosforilación de *ChREBP* y su translocación al núcleo (Casado-Pinna, 2009).

En el núcleo, coordinado con *SREBP-1c* controlará el metabolismo hepático de la glucosa (Figura 2.13c).

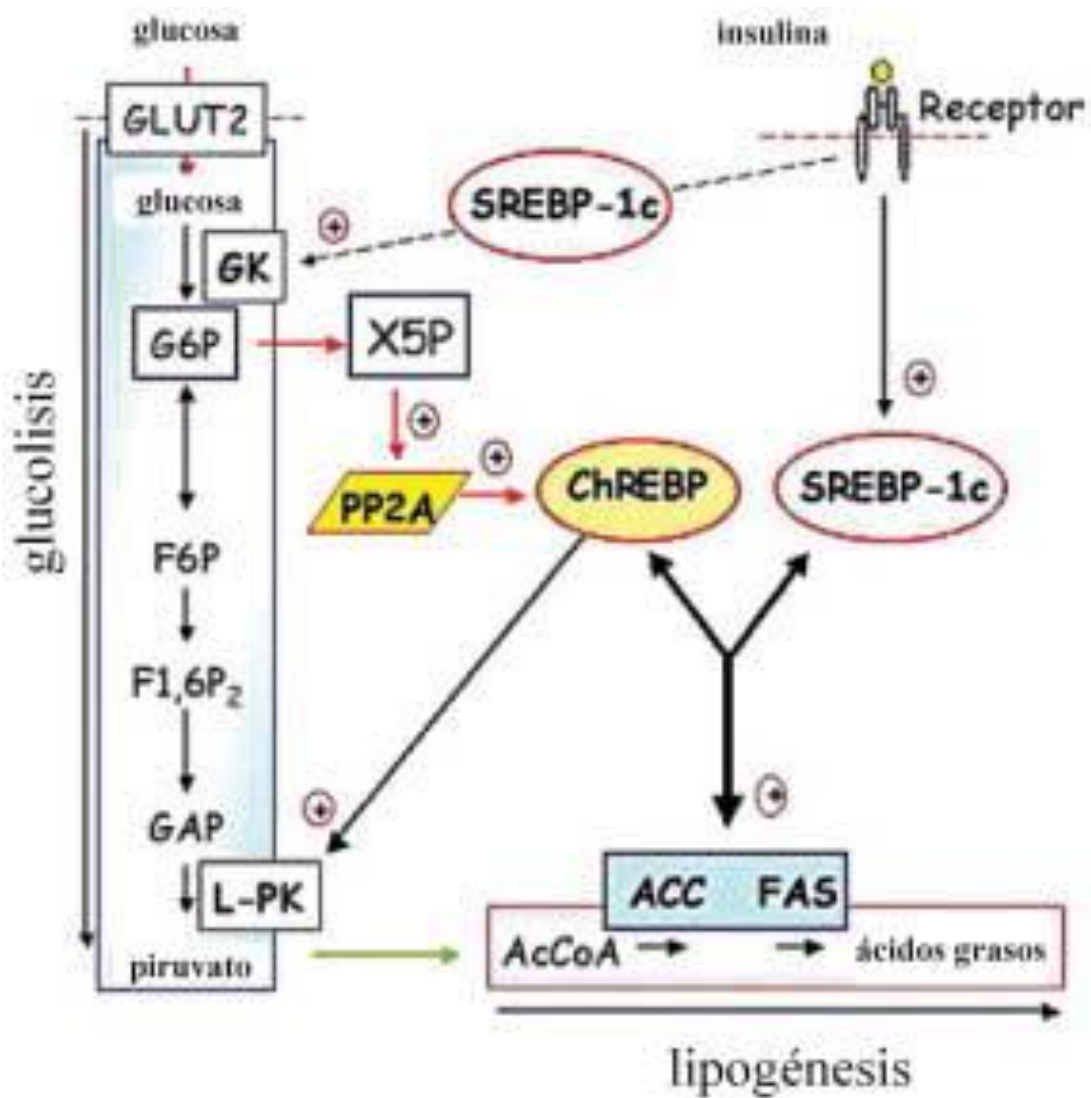


Figura 2.13c. Acción coordinada de *SREBP-1c* y *ChREBP* en la regulación de la expresión de genes glucolítico/lipogénicos (*GK*= Glucocinasa) (Casado-Pinna, 2009)

2.7. FISIOLÓGÍA DE ALGUNOS ÓRGANOS DE INTERÉS

2.7.1. HÍGADO

El hígado es la glándula más voluminosa del cuerpo, pesa entre 1.4 y 1.6 kg, está situado inmediatamente por debajo del diámetro del diafragma (Figura 2.14a).

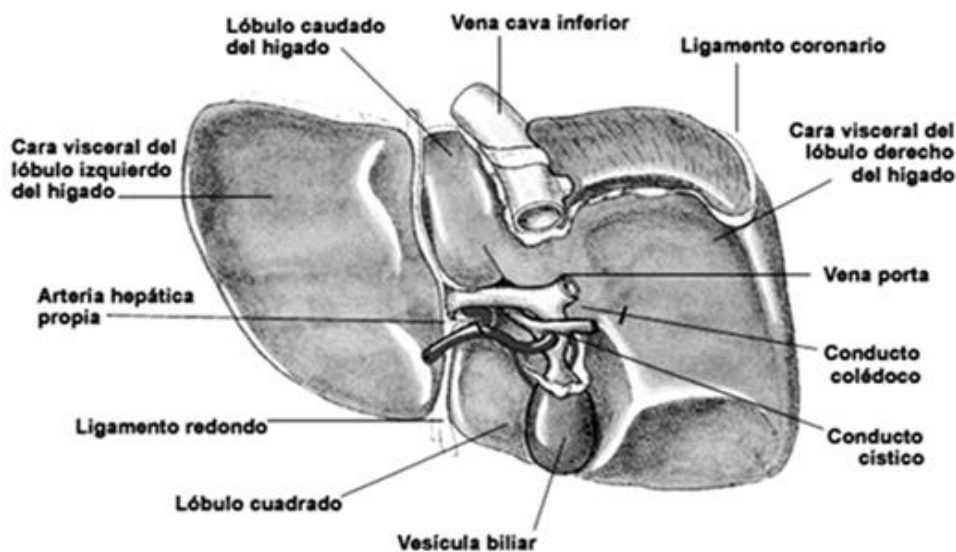


Figura 2.14a. Anatomía del hígado (Google Imágenes, 2011a)

Lóbulos: El ligamento falciforme divide al hígado en dos lóbulos principales, derecho e izquierdo, y el derecho tiene tres partes que se llaman lóbulo derecho propiamente dicho, lóbulo caudado o de Spiegel y lóbulo cuadrado. Cada lóbulo está dividido en muchos lobulillos por vasos sanguíneos de pequeño calibre y por cordones fibrosos que forman una armazón de sostén para los mismos. Los lobulillos hepáticos unidades anatómicas que forman una víscera, son cilindros hexagonales o pentagonales pequeños, de 2 mm de alto y 1 mm de diámetro.

El hígado es uno de los órganos vitales del cuerpo, ya que en las células hepáticas ocurren procesos importantes de metabolismo y anabolismo de las grasas. En él se efectúan tres procesos que ayudan a conservar la homeostasis y la concentración sanguínea de glucosa. Cuando ésta sube por encima de cierto nivel, el movimiento de moléculas de glucosa se acelera. Dentro de las células hepáticas se almacena este glucógeno, en su citoplasma, hasta que la concentración sanguínea de glucosa empieza a disminuir. A continuación la vuelven a cambiar a glucosa (gluconeogénesis) y la liberan hacia la sangre. Así, gluconeogénesis y glucogenólisis hepáticas funcionan para ayudar a conservar la homeostasis de la glucosa sanguínea (Anthony-Parker y Kolthoff, 1977).

2.7.2. PÁNCREAS

El páncreas tiene una forma que pudiera compararse a la de un pez. Está situado detrás del estómago, con la cabeza y el cuello dentro del marco en forma de C, del duodeno; el cuerpo se extiende horizontalmente a través de la pared abdominal posterior y la cola llega al bazo

(Figura 2.14b). El páncreas varía en dimensiones según el sexo y cada sujeto: es más voluminoso en varones que en mujeres. Por lo regular tiene 15 a 22.5 cm de longitud, 2.5 a 3.75 cm de ancho y 1.25 a 2.5 cm de grueso, pesa 90 g aproximadamente. Entre las unidades tubuloacinosas del páncreas semejante a muchos islotes pequeños separados entre sí y de los conductos del páncreas, se advierten a cúmulos de células llamadas *islotas de Langerhans*. Están formados principalmente por dos tipos de células, células alfa y células beta. Son células secretoras, pero la secreción llega a los capilares sanguíneos y no a los conductos. De esta manera, el páncreas es glándula doble, exocrina a causa de las unidades tubuloacinosas y endocrina por virtud de los islotes de Langerhans (Anthony-Parker y Kolthoff, 1977).

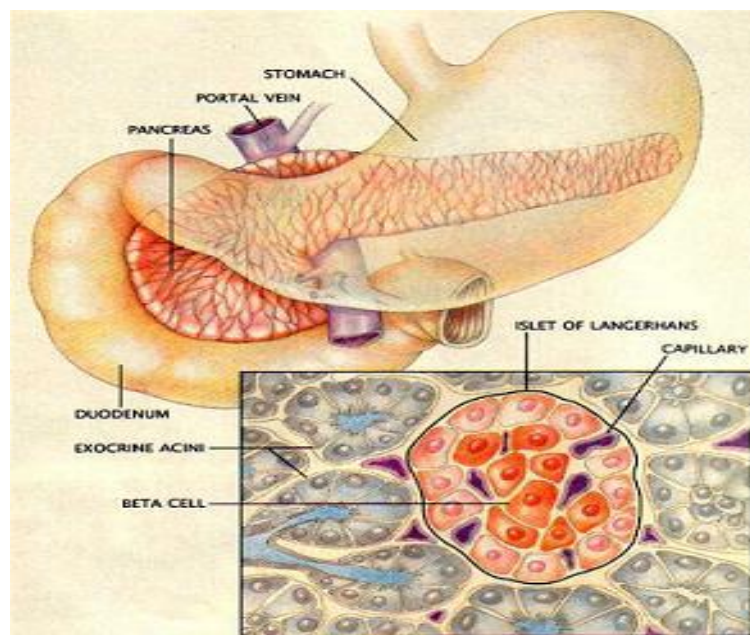


Figura 2.14b. Anatomía del páncreas (Google Imágenes, 2011b)

2.7.3. RIÑÓN

Los riñones guardan semejanza con habichuelas por su forma, el riñón de volumen promedio mide aproximadamente 11.25 cm de longitud y a 7.5 cm de ancho y 2.5 cm de grueso (Figura 2.14c). Por lo regular, el riñón izquierdo es más voluminoso que el derecho. Los riñones están situados detrás del peritoneo parietal, contra la pared abdominal posterior, a la altura de la última vértebra dorsal y las primeras tres lumbares. Por el lugar que ocupa el hígado, el riñón derecho se desplaza y queda un poco más abajo que el izquierdo. En estado normal, los riñones se mantienen en posición por virtud de una cápsula o atmosfera adiposa abundante. Al aplicar corte coronal por los riñones se advierte que están formados por dos tipos de sustancia: la capa externa o corteza y la porción interna o

médula. La cápsula de Bowman está invaginada en un racimo de capilares denominados *glomérulos*. La cápsula de Bowman y el glomérulo al que rodea parcialmente se llaman *corpúsculo renal* o de Malpighi. La sangre llega a cada glomérulo por una arteriola aferente y sale del mismo por una arteriola eferente, disposición extraordinariamente peculiar. El glomérulo, la cápsula de Bowman y el túbulo renal, con sus porciones contorneada proximal, asa de Henle y contorneada distal, forman una *nefrona*, la unidad estructural y funcional de un riñón y se indica que hay casi 1.25 millones de nefronas en cada riñón (Anthony-Parker y Kolthoff, 1977).

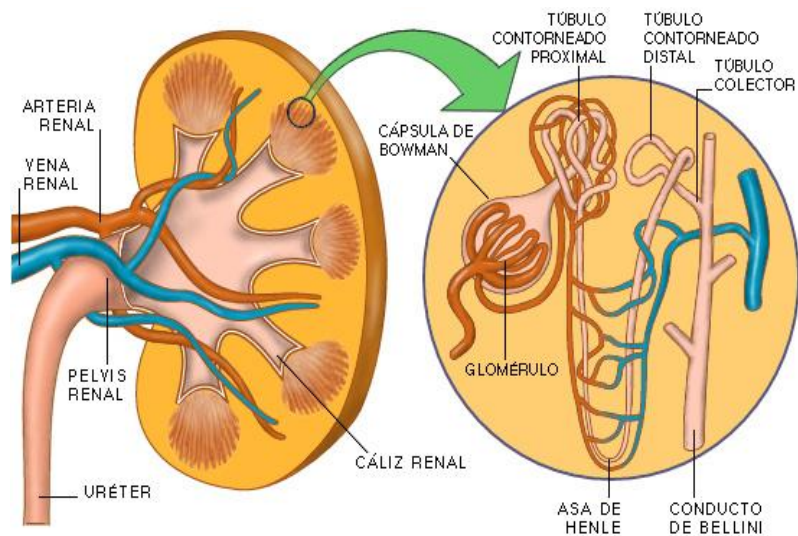


Figura 2.14c. Anatomía de riñón (Google Imágenes, 2011c)

La función de los riñones es excretar orina, importantísima para conservar la vida, porque de ella depende la homeostasis. Más que cualquier otro órgano del cuerpo, los riñones pueden ajustar el volumen de agua y electrolitos que salen del cuerpo de manera que sean siempre iguales a la cantidad de estas sustancias que entran en la sangre. Excretar orina consiste en tres fenómenos: filtración glomerular, resorción tubular y secreción tubular (Anthony-Parker y Kolthoff, 1977).

- **Filtración glomerular:** la filtración, la primera etapa en la formación de orina, ocurre en los glomérulos, de la sangre hacia la cápsula de Bowman. El agua y los solutos salen por filtración de los glomérulos más rápidamente aún que los capilares corrientes. Los glomérulos tienen muchos más poros que otros capilares. El líquido pasa de los glomérulos a la cápsula de Bowman por el mismo motivo que sale de los capilares hacia el líquido intersticial o que se desplaza de una zona a otra, esto es porque hay un gradiente de presión entre las dos áreas.

- **Resorción tubular:** la segunda etapa en la formación de orina es la de resorción de sustancias, de la mayor parte del agua y de parte del soluto filtrado glomerular que vuelve a la sangre.
- **Secreción tubular:** la tercera etapa en la formación de la orina es la secreción tubular o excreción tubular, la cual significa movimiento de sustancias desde la sangre hasta el filtrado en los túbulos renales. La resorción y la secreción hacen que algunas sustancias se desplacen por transporte activo y otras por mecanismos pasivos.

2.7.4. CORAZÓN

El corazón humano es un órgano muscular que posee cuatro cavidades y que tiene la forma y el tamaño aproximado de la mano empuñada. Está situado en el mediastino, aproximadamente dos terceras partes de la masa a la izquierda de la línea media del cuerpo, y la otra tercera parte a la derecha (Figura 2.14d). El borde inferior del corazón, que forma un ángulo como llamado *vértice* o punta, está sobre el diafragma y orientado hacia la izquierda.

El corazón tiene una envoltura especial un saco que lo envuelve de manera no muy íntima, llamado *pericardio*. El pericardio consiste en dos partes, pericardio fibroso y el pericardio seroso, el saco mismo está formado por tejido fibroso blanco y resistente, pero revestido de una membrana serosa lisa y húmeda, la hoja parietal del pericardio seroso. La misma clase de membrana cubre toda la superficie externa del corazón; esta capa se llama hoja visceral del pericardio seroso o epicardio (Anthony-Parker y Kolthoff, 1977).

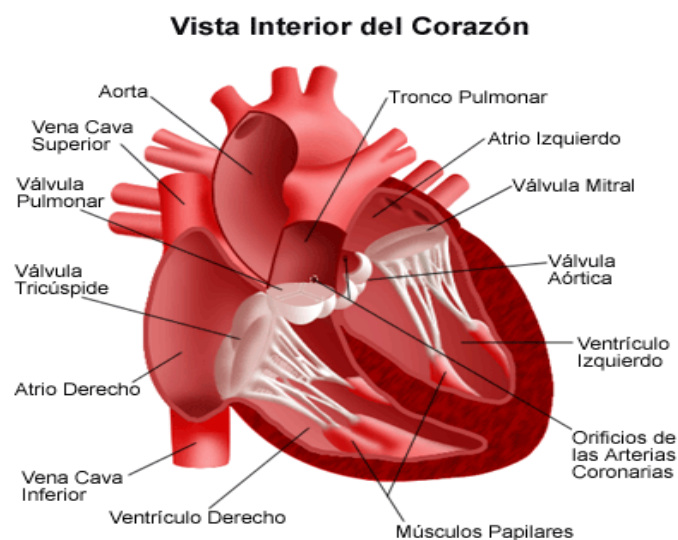


Figura 2.14d. Anatomía del corazón (Google Imágenes, 2011d)

2.7.5. Tejido retroperitoneal o adiposo

El tejido adiposo difiere del tejido conectivo laxo corriente de manera principal por cuanto en él predominan las células adiposas y tiene mucho menor número de fibroblastos, macrófagos y células cebadas. El tejido adiposo forma cojines protectores alrededor del riñón y otros órganos. Sirve también a otras dos funciones: constituye un depósito de almacenamiento del exceso de alimento y actúa como material aislante para conservar el calor corporal (Anthony y Kolthoff, 1977). Se distinguen dos tipos de tejido, blanco y pardo (Figura 2.14e).

- **Tejido adiposo blanco:** está formado por adipocitos (con un diámetro máximo de 100 μm) que contienen cada uno, sólo una gota de grasa (sobre todo grasa neutra). Desde el punto de vista funcional, puede subdividirse en grasa estructural y grasa de reserva. La grasa estructural cumple varias funciones sirve para el mantenimiento en posición de los órganos, como material de almohadillamiento y como material de sustitución de otros tejidos y sólo es movilizada en condiciones de desnutrición avanzada. La grasa de reserva sirve como almacén de energía y como aislante térmico. Se encuentra grasa de reserva, sobre todo en el panículo adiposo y en la cavidad abdominal.
- **Tejido adiposo pardo:** existe casi exclusivamente en los recién nacidos. En este tejido adiposo, los adipocitos son pequeños y polimorfos, junto con numerosas mitocondrias y contienen muchas gotitas de grasa. La coloración de este tejido se debe a su contenido en pigmentos exógenos liposolubles, sirve para la producción de calor, sin temblor o escalofrío en los bebés.

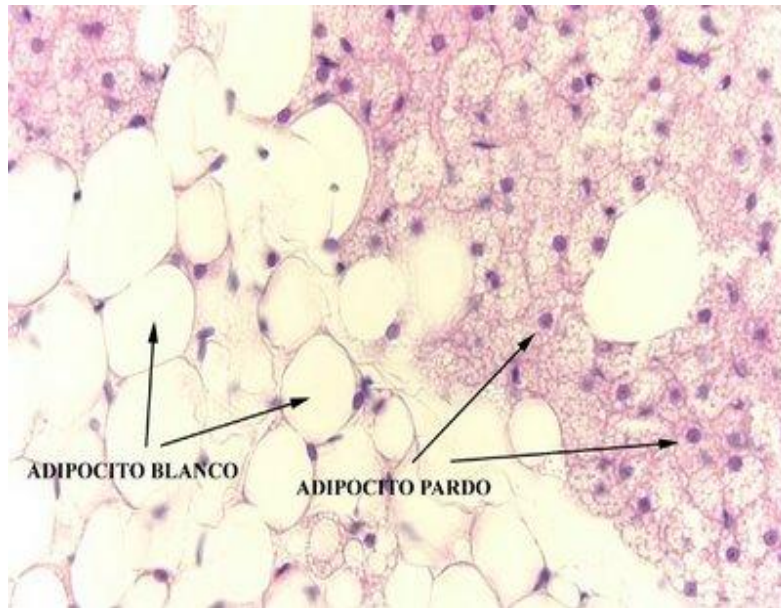


Figura 2.14e. Anatomía del tejido adiposo (Google Imágenes, 2011e)

2.8. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS PARA LA PRODUCCIÓN, CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO (ROEDORES) SEGÚN LA Norma Oficial Mexicana, NOM-062-ZOO-1999 (DOF, 1999)

2.8.1. ALIMENTO

El alimento para todas las especies debe cumplir con las siguientes características:

- a) Debe estar libre de aditivos, drogas, hormonas, antibióticos, pesticidas y contaminantes.
- b) Debe estar dentro de su periodo de caducidad.
- c) Almacenado en bodegas o cuartos desinfectados, secos y ventilados, sobre tarimas o en contenedores.
- d) El alimento debe proporcionarse a libre acceso o en forma restringida dependiendo de las necesidades de la cepa y de los procedimientos experimentales.

El alimento debe ser palatable, de una fórmula nutricional constante y certificado en cuanto a su composición. En el Cuadro 3 de la norma NOM-062-ZOO-1999 se describe la composición general de un alimento para roedores de laboratorio en base seca para cubrir las necesidades de crecimiento, gestación, lactación y mantenimiento (DOF, 1999).

2.8.2. RESTRICCIÓN DE LÍQUIDO O DEL ALIMENTO

Cuando se requiere experimentalmente restringir la ingesta de líquido o del alimento, estos deberán brindarse, por lo menos, en las cantidades mínimas para permitir el desarrollo de los animales jóvenes y para mantener el bienestar a largo plazo de todos los animales como lo requiere el experimento. La restricción debida a propósitos de investigación debe estar justificada científicamente y acompañada de un programa que verifique los parámetros fisiológicos y de conducta e incluya criterios (tales como la pérdida de masa corporal y el estado de hidratación) para el retiro, temporal o permanente del protocolo experimental, del animal que quede dentro de estos parámetros. La restricción es generalmente cuantificada como un porcentaje de la ingesta “ad libitum” o del consumo diario o como cambio porcentual conforme a la masa corporal del animal (Olfert y col., 2006).

2.8.3. SALUD ANIMAL (DOF, 1999)

Todas las instituciones donde se alojen animales de laboratorio con fines de investigación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas y enseñanza, deberán implantar programas sanitarios para la prevención de enfermedades. Deben proporcionar el espacio adecuado que permita movimientos y adopciones de las posturas normales de la especie:

- a)** Ser cerrado a prueba de escape y proteger al animal de amenazas externas.
- b)** Ser adecuado en ventilación y conforme a las necesidades biológicas de la especie.
- c)** Ser resistente al lavado y desinfección frecuente.

Los roedores deben mantenerse en algunos de los tres tipos de jaulas o cajas existentes:

- a)** Cajas con pisos y paredes continuas sólidas y con tapa removible de reja o perforadas,
- b)** Jaulas enteramente hechas de malla de alambre.
- c)** Combinación de los dos tipos.
- d)** Los roedores deben estar libres de las enfermedades zoonóticas y parásitos externos, a menos que el procedimiento experimental aprobado por el Comité indique lo contrario. En este caso, el bioterio debe contar con las medidas sanitarias y de control que asegure el control absoluto de los animales en experimentación (escape, contacto con roedores silvestres, eliminación de cadáveres u otros), así como protección del personal en contacto con los animales, sus partes o sus desechos.

La temperatura ambiente, la humedad, los cambios de aire, la frecuencia de limpieza de las jaulas, los ciclos de luz-oscuridad, el ruido y las rutinas diarias, son ejemplos de condiciones

ambientales que afectan o aumentan el bienestar de los animales en una institución de investigación. Por ello, a menos que el estudio lo requiera de otra manera, todos los animales recibirán una alimentación saludable y nutritiva, según los requerimientos de la especie seleccionada (Olfert y col., 2006).

2.8.4. ESPACIO MÍNIMO PARA ROEDORES DE LABORATORIO

Los confinamientos o encierros primarios deben tener las siguientes características; aún cuando en condiciones experimentales pueden variar, previa autorización del Comité (Tabla 2.2).

Tabla 2.2. Espacio mínimo para roedores de laboratorio (DOF, 1999)

Animal	Masa en gramos	Área del piso por animal en cm ²	Altura en cm del piso al techo de la jaula o caja
Rata	<100	110	18
	100-300	187	20
	300-400	258	20
	400-500	387	20
	>500	452	20

- a) Satisfacer las necesidades fisiológicas (alimentación, defecación, micción u otros) y conductuales de los animales, permitiendo los movimientos normales y ajustes posturales característicos de la especie.
- b) Cuando esté indicado, deberá favorecer la reproducción y la crianza.
- c) Permitir las interacciones sociales entre los individuos de la especie, el establecimiento de jerarquías y las conductas de escape.
- d) Brindar una ventilación e iluminación adecuadas.
- e) Favorecer que los animales se mantengan limpios y secos.
- f) Ser seguras, impidiendo el escape de los animales o el entrapamiento de sus extremidades.
- g) Deben tener bordes y aristas redondeadas.
- h) El diseño debe facilitar la limpieza y saneamiento rutinario y también las faenas de cambio, llenado y suministro de agua y alimento.
- i) Permitir la observación de los animales.
- j) Deben mantenerse en buenas condiciones de uso.
- k) Se recomienda alojar a los roedores en jaulas con piso sólido y material de lecho.

2.8.5. ANESTESIA

Antes de cualquier intervención quirúrgica debe realizarse un perfil hematológico y bioquímico del animal.

2.8.6. MEDICACIÓN PREANESTÉSICA

Dependiendo de la talla del animal se recomienda ayuno de sólidos de 12 a 24 horas y ayuno de líquidos de 12 horas antes de ser anestesiado.

2.8.7. EUTANASIA

Son los procedimientos empleados para inducir de manera humanitaria la muerte de los animales (eutanasia) empleados en la investigación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y enseñanza, con el propósito de eliminar o disminuir al mínimo el dolor y el estrés previo y durante el procedimiento; para lograrlo, cualquier técnica aplicada debe causar en el animal: rápida inconsciencia, paro cardíaco y/o respiratorio y pérdida de la función cerebral. Además, debe reducir al mínimo la perturbación emocional, la incomodidad y/o el sufrimiento experimentado por la persona que lleve a cabo el procedimiento.

La selección del método o forma de eutanasia y el agente que será utilizado necesita ser tomado en consideración de acuerdo con la naturaleza y requerimientos del estudio experimental, aprobado por el Comité.

Es absolutamente necesario seleccionar un método que cause el menor sufrimiento a los animales.

El método más recomendable para la eutanasia de varias especies de mamíferos es la cámara de CO₂. Sólo se permite que la fuente de CO₂ sean cilindros de gas comprimido liberado en una cámara cerrada; es preferible que la cámara se gasifique, previa a la introducción de los animales a una concentración mínima de 70%. Con el animal en la cámara, el flujo de CO₂ debe reemplazar por lo menos el 20% del volumen total de aire por minuto, esta aplicación es para animales de experimentación tales como: ratas, ratones, cobayos, perros, hámsteres, conejos y gatos, debido a su rápido efecto depresivo y anestésico, que conduce a la muerte por hipoxia en pocos minutos.

Este gas se selecciona debido a que está fácilmente disponible en cilindros de gas comprimido, a que es barato, no inflamable, no explosivo, seguro en su operación para el personal, no se acumula en los tejidos y no deforma la arquitectura celular (DOF, 1999).

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA PROPUESTA DURANTE EL DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1. DESARROLLO EXPERIMENTAL

En la Figura 3.1 se puede apreciar la metodología a seguir durante el desarrollo experimental.

3.2. CONDICIONES EXPERIMENTALES

El estudio incluyó 8 lotes (7 para los edulcorantes y 1 lote control), cada uno con 15 ratas macho (120 ratas en total) de la variedad “Wistar”, recién destetadas y cuya clave de cepa es la HsdBr1Han: WIST (Figura 3.2), las cuales fueron adquiridas a través del Centro UNAM-HARLAN de Producción de Animales de Laboratorio (Jiménez-Godínez y Ramírez-Gómez, 2008). El Anexo 1 muestra las características del modelo animal empleado.



Figura 3.2. Ratas recién destetadas en la etapa de adaptación al régimen de alimento sólido

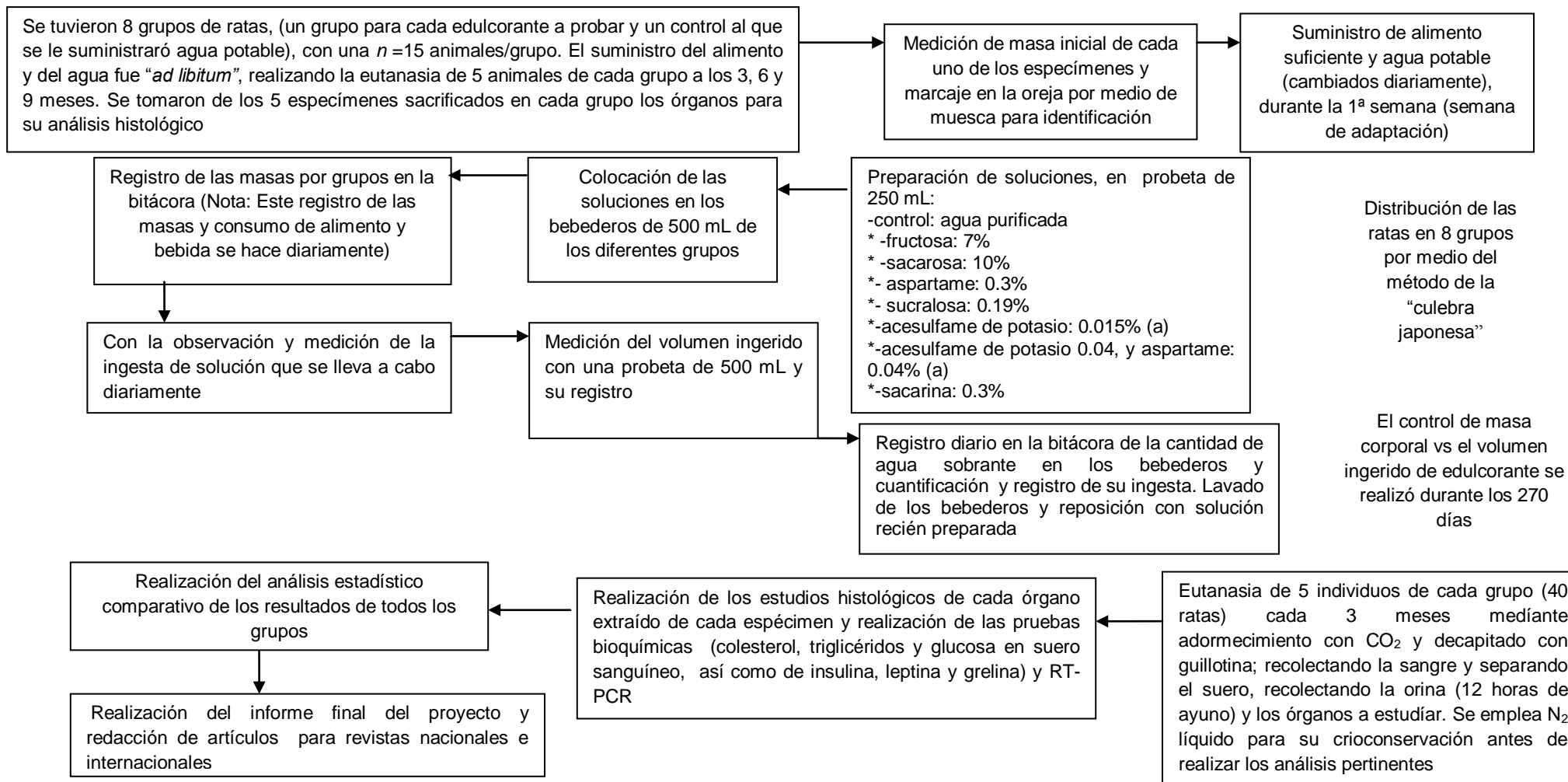


Figura 3.1. Metodología para el desarrollo experimental. Los valores de los edulcorantes están dentro de la ingesta diaria aceptada, ADI, *acceptable daily ingesta*, en inglés (JECFA, 1993) y encontradas normalmente en una bebida que emplea edulcorantes artificiales. Los valores para azúcar y fructosa se tomaron de acuerdo con lo propuesto por Jürgens *et al.* (2005). El tiempo de duración del experimento (270 días) corresponde a la zona donde la tasa de aumento en masa corporal de las ratas tiene una pendiente menor (Harlan, 2004). (a) Correspondiente al valor de ingesta diaria aceptable, IDA, ADI, *acceptable daily ingesta*, en inglés (JECFA, 1993).

El estudio comenzó el 9 de febrero del 2009. El primer sacrificio se realizó los días 26, 27 y 28 de mayo del 2009. El segundo sacrificio se realizó los días 25 y 26 de agosto del 2009 y el tercero se realizó los días 24 y 25 de noviembre del 2009. Cada sacrificio constó de 5 individuos de cada grupo (40 en total en cada sacrificio).

La Unidad de Experimentación Animal (UNEXA) donde se realizó la fase experimental se ubica en el Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM y cuenta con un sistema de barrera que brinda las condiciones técnicas y científicas óptimas para la crianza de animales de laboratorio, libres de microorganismos patógenos específicos.

Cabe mencionar que los animales de cada una de la barreras Harlan, son evaluados periódicamente en la *University of Missouri* en los EEUU y los resultados son publicados también periódicamente. Se siguen los códigos de ética de esta Unidad de Experimentación Animal (Gracia-Mora, 2008).

Los especímenes llegaron a la Unidad de Experimentación Animal del Conjunto E de la Facultad de Química el día 03 de febrero de 2009, llevándose un periodo de adaptación de una semana. Una vez adaptados, fueron distribuidos en cada uno de los grupos dependiendo de sus masas iniciales, de manera horizontal con la finalidad de tener una homogeneidad de masas entre cada grupo siguiendo el método de la culebra japonesa (Figura 3.3a).

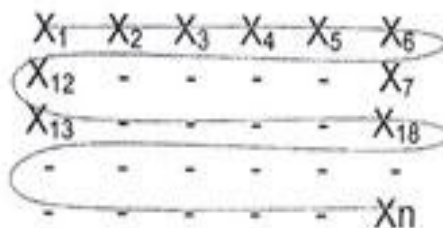


Figura 3.3a Distribución homogénea de las ratas para el bioensayo

Este método distribuye a los animales de estudio en orden ascendente de masa corporal y se van arreglando los 8 lotes de quince ratas de manera homogénea (AOAC, 1990). Cabe mencionar que a la llegada a la UNEXA de la Facultad de Química fueron marcados en las orejas por medio de una muesca o perforación en la oreja para identificar a cada uno de ellos como se observa en las Figuras 3.3b y 3.3c.

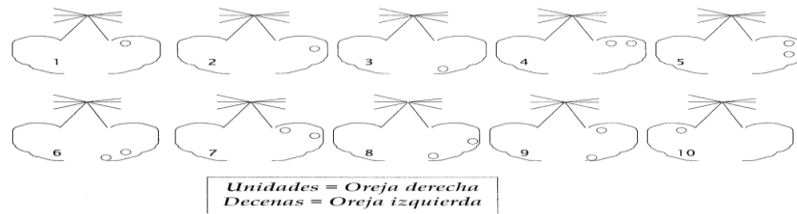


Figura 3.3b Marcado de oreja por medio de muesca para su identificación

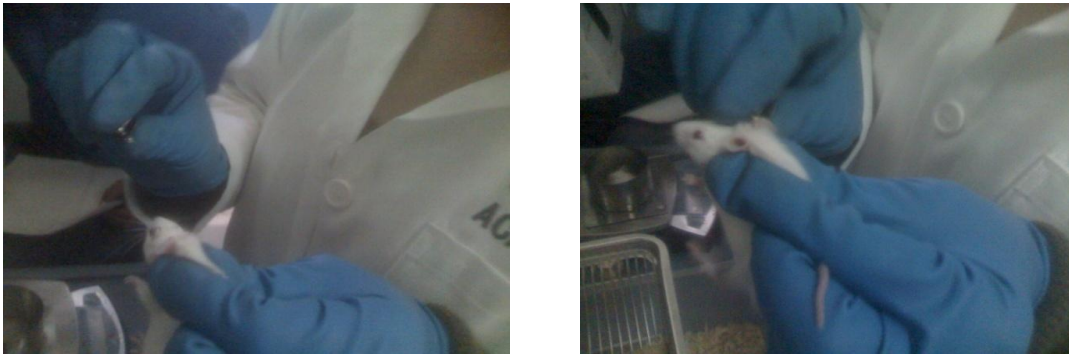


Figura 3.3c. Identificación de ratas por medio de la muesca en la oreja

3.3. ORDEN QUE TUVIERON LAS RATAS AL COLOCARLAS COMO LO INDICADO EN LA CULEBRA JAPONESA

A continuación, en las Tablas 3.1b a 3.4 se presenta el orden en que permanecieron las 118 ratas colocadas en los racks, las 2 restantes se encontraban en cajas de policarbonato durante el ensayo biológico. Las ratas fueron pesadas inicialmente y distribuidas homogéneamente de acuerdo con el método de la "culebra japonesa". Este método distribuye las masas en orden ascendente y se van haciendo lotes de seis en seis de izquierda a derecha y regresa de derecha a izquierda para una distribución homogénea. Las fotografías aparecen en las Figuras 3.4a hasta d.

3.4. PREPARACIÓN DE LAS DIETAS

3.4.1. ALIMENTACIÓN

La dieta basal empleada para alimentar los especímenes fue la proporcionada por la Unidad de Experimentación Animal del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM, la cual lleva los ingredientes en la formulación que a continuación se describen y es vendida comercialmente como "Alimento Teklad Global para Roedores", con un 18% de proteína, No. de catálogo: 2018S (Harlan, 2004).

Tabla 3.1b. Acomodo de los animales en el anaquel rodante 1 dentro de la Unidad Experimental Animal (UNEXA) de la Facultad de Química de la UNAM

Rata 35 Asp-Ace	Rata 39 Sacarina	Rata 36 Acesulfamo	Rata 30 Control	Rata 31 Fructosa	Rata 110 Sucralosa
Rata 101 Fructosa	Rata 71 Sucralosa	Rata 24 Sacarosa	Rata 61 Aspartame	Rata 63 Acesulfamo	Rata 117 Control
Rata 70 Acesulfamo	Rata 14 Control	Rata 17 Acesulfamo	Rata 2 Sacarina	Rata 67 Aspartame	Rata 49 Sacarosa
Rata 1 Asp-Ace	Rata 104 Sacarina	Rata 52 Sacarosa	Rata 93 Aspartame	Rata 3 Sucralosa	Rata 66 Fructosa
Rata 59 Sucralosa	Rata 16 Fructosa	Rata 90 Control	Rata 10 Acesulfamo	Rata 20 Sacarina	Rata 95 Asp-Ace

Tabla 3.2. Acomodo de los animales en el anaquel rodante 2 dentro de la Unidad Experimental Animal (UNEXA) de la Facultad de Química de la UNAM

Rata 38 Fructosa	Rata 21 Sucralosa	Rata 40 Sacarosa	Rata 23 Aspartame	Rata 113 Acesulfamo	Rata 116 Control
Rata 62 Acesulfamo	Rata 91 Control	Rata 35 Asp-Ace	Rata 99 Sacarina	Rata 85 Aspartame	Rata 42 Sacarosa
Rata 77 Sucralosa	Rata 56 Fructosa	Rata 60 Asp-Ace	Rata 43 Sacarina	Rata 98 Sacarosa	Rata 82 Aspartame
Rata 47 Aspartame	Rata 83 Control	Rata 9 Sacarina	Rata 94 Acesulfamo	Rata 88 Asp-Ace	Rata 80 Sacarina
Rata 38 Fructosa	Rata 21 Sucralosa	Rata 40 Sacarosa	Rata 23 Aspartame	Rata 113 Acesulfamo	Rata 116 Control

Tabla 3.3. Acomodo de los animales en el anaquel rodante 3 dentro de la Unidad Experimental Animal (UNEXA) de la Facultad de Química de la UNAM

Rata 34 Asp-Ace	Rata 33 Sacarina	Rata 118 Acesulfamo	Rata 28 Control	Rata 29 Fructosa	Rata 26 Sucralosa
Rata 68 Aspartame	Rata 106 Fructosa	Rata 115 Sacarina	Rata 120 Acesulfamo	Rata 76 Sacarosa	Rata 109 Aspartame
Rata 86 Sacarosa	Rata 87 Sucralosa	Rata 114 Fructosa	Rata 8 Control	Rata 64 Acesulfamo	Rata 102 Asp-Ace
Rata 12 Asp-Ace	Rata 18 Sacarina	Rata 54 Sacarosa	Rata 100 Sucralosa	Rata 41 Aspartame	Rata 57 Control
Rata 73 Sucralosa	Rata 74 Fructosa	Rata 15 Control	Rata 75 Asp-Ace	Rata 6 Sacarina	


 No se colocó rata en esta jaula, debido a que no presentaba las mejores condiciones para almacenar al espécimen, se colocó el espécimen faltante en una caja de policarbonato ubicada sobre el anaquel rodante (ver fotografía en la Fig. 3.4)

Tabla 3.4. Acomodo de los animales en el anaquel rodante 4 dentro de la Unidad Experimental Animal (UNEXA) de la Facultad de Química de la UNAM

Rata 37 Acesulfamo	Rata 107 Control	Rata 72 Fructosa	Rata 103 Sucralosa	Rata 27 Sacarosa	Rata 32 Aspartame
Rata 105 Sacarosa	Rata 51 Aspartame	Rata 119 Sacarina	Rata 22 Aspartame	Rata 65 Sacarina	Rata 112 Acesulfamo
Rata 45 Sucralosa	Rata 54 Fructosa	Rata 96 Control	Rata 50 Acesulfamo	Rata 58 Aspartame	Rata 84 Sucralosa
Rata 89 Aspartame	Rata 48 Sacarosa	Rata 44 Sucralosa	Rata 46 Fructosa	Rata 11 Control	Rata 78 Sacarosa
Rata 19 Control	Rata 7 Fructosa	Rata 13 Asp-Ace	Rata 82 Sacarosa		Rata 92 Aspartame

□ No se colocó rata en esta jaula, debido a que no presentaba las mejores condiciones para almacenar al espécimen, se colocó el espécimen faltante en una caja de policarbonato ubicada sobre el anaquel rodante (ver fotografía en la Fig. 3.4)



(a) Anaquel rodante ("Rack") 1



(b) Anaquel rodante ("Rack") 2



(c) Anaquel rodante ("Rack") A



(d) Anaquel rodante ("Rack") B

Figura 3.4a, b c, d. Fotos de los anaqueles rodantes ("Racks") donde se colocaron las ratas

3.4.2. INGREDIENTES DE LA FORMULACIÓN

Los ingredientes son: Trigo molido, maíz molido, acemite (granzas limpias y descortezadas del salvado, que quedan del grano remojado y molido gruesamente) de trigo, harina de soya descascarillada, harina de gluten de maíz, suplemento de vitamina B₁₂, riboflavina, sulfato ferroso, óxido de magnesio, óxido de manganeso, óxido de zinc, sulfato de cobre, yodato de calcio, carbonato de cobalto, sulfato crómico de potasio, caolín, aceite de soya, carbonato de calcio, levadura de cerveza deshidratada, difosfato de calcio, sal yodatada, L-lisina, DL-metionina, cloruro de colina, mono nitrato de tiamina, biotina, niacina, acetato de vitamina A, clorhidrato de piridoxina, suplemento de vitamina D₃, ácido fólico, complejo de bisulfito de sodio, de menadiona (fuente de vitamina K funcional), pantotenato de calcio, suplemento de vitamina E.

3.4.3. ANÁLISIS QUÍMICO INFORMATIVO DE LA DIETA (Harlan, 2009)

A continuación se muestran los porcentajes de los nutrimentos que componen el alimento:

Proteína cruda: 18%

Grasa cruda: 5%

Fibra cruda: 5%

Vitaminas

Vitamina A, retinol, vitamina D₃, colecalciferol, vitamina E (a-tocoferol), vitamina K₃, vitamina B₁ (tiamina), vitamina B₂ (riboflavina), niacina (ácido nicotínico), vitamina B₆ (piridoxina), ácido pantoténico, vitamina B₁₂ (cianocobalamina), biotina

Ácidos grasos

C16:0 palmítico, C18:0 esteárico, C18:1 oleico, C18:2 linoleico, C18:3 linolénico, total saturados 9 g/kg, total monoinsaturados 12.8 g/kg, total poliinsaturados 34.1g/kg, beta caroteno 2.5 mg/kg, inositol 1450.0 mg/kg

Macronutrimentos: Energía digerible en kcal/g, 3.4 (14.0 kJ/g), energía metabolizable en kcal/g, 3.3 (13.7 kJ/g)

Micronutrimentos: Minerales (Calcio, fósforo, sodio, potasio, cloro, magnesio, zinc, manganeso, cobre, yodo, hierro, selenio, cobalto, cromo)

Micronutrientes: Aminoácidos (Ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, glicina, treonina, prolina, serina, leucina, isoleucina, valina, fenilalanina, tirosina, phe + tyr, metionina, cisteína, Met + Cyst, lisina, histidina, arginina, triptófano).

3.5. PREPARACIÓN DEL AGUA DE BEBER EMPLEADA PARA EL DESARROLLO DE LA PRUEBA

Los edulcorantes de cada grupo se disuelven en el agua utilizando concentraciones similares a las reportadas en las bebidas comerciales no alcohólicas. A continuación se describen las características de cada edulcorante en solución.

1. Agua con fructosa; es una solución de fructosa al 7% (7g de fructosa aforados a 100 mL con agua potable, equivalentes a 3.75 kcal/g o 0.375 kcal/mL)
2. Agua con azúcar de caña (sacarosa); es una solución de sacarosa al 10% (10 g de sacarosa aforados a 100 mL con agua potable, equivalentes a 4 kcal/g o 0.4 kcal/mL)
3. Agua con un edulcorante artificial (sucralosa); es una solución de sucralosa al 0.19% (0.19 g de sucralosa aforados a 100 mL con agua potable, equivalentes a una cantidad que para este estudio se considera despreciable de kcal/mL)
4. Agua con un edulcorante artificial (aspartame); es una solución de aspartame al 0.3% (0.3 g de aspartame aforados a 100 mL con agua potable, equivalentes a una cantidad que para este estudio se considera despreciable de kcal/mL)
5. Agua con un edulcorante artificial (acesulfame de potasio), es una solución de acesulfame de potasio al 0.015% (0.015 g de acesulfame de potasio aforados a 100 mL con agua potable, equivalentes a una cantidad que para este estudio se considera despreciable de kcal/mL)
6. Agua con una combinación de edulcorantes artificiales acesulfame de potasio-aspartame; es una solución de acesulfame de potasio-aspartame: cada uno en una concentración de 0.04%, ya que es lo empleado en las bebidas gasificadas que contienen esta mezcla de edulcorantes
7. Agua con una solución de sacarina al 0.3% (0.3 g de sacarosa aforados a 100 mL con agua potable, equivalentes a una cantidad que para este estudio se considera despreciable de kcal/mL)
8. Agua potable "simple" como control, esto es 250 mL de agua sin adición de edulcorante.

El agua se suministró en bebederos de 400 mL; colocando solamente 250 mL de agua y cuantificando el consumo de cada tipo de agua diariamente mediante el uso de una probeta

de 250 mL. Asimismo, se cambió diariamente el agua para evitar su descomposición y los bebederos fueron lavados perfectamente. Esto se observa en las Figuras 3.5 a y b.



Figura 3.5a. Bebederos limpios y preparación de las soluciones con los edulcorantes energéticos



Figura 3.5b. Medición del volumen de solución acuosa ingerido

3.6. REGISTRO DE GANANCIAS EN MASA CORPORAL Y DE CONSUMO DE ALIMENTO Y AGUA ENDULZADA

El registro de masas corporales se realizó de manera individual a las ratas de cada grupo en una balanza analítica marca OHAUS modelo Scout II (Figura 3.6). También diariamente, se hizo el registro en la bitácora del alimento ingerido por cada uno de los especímenes y el consumo de líquido de manera individual, guardando los datos en archivos tipo Excel (Anexo 4).



Figura 3.6. Balanza analítica para registro de masa corporal y de ingestión diaria de alimento

3.7. EUTANASIA DE LOS ESPECÍMENES BAJO ESTUDIO

Una vez culminado el tiempo de cada fase del experimento (104 días, 197 días y 288 días, más los 7 días de adaptación), se llevó a cabo su eutanasia. Se introdujo el espécimen en una cámara con dióxido de carbono con el objetivo de causarle inconsciencia antes de su muerte, seguida de la decapitación empleado una guillotina especial para roedores (Figuras 3.7 a,b). Es importante mantener a los animales en un ayuno de 12 horas antes de la eutanasia. Durante todo el experimento biológico se cuenta con la asesoría de la M. en C. María Isabel Gracia-Mora, responsable de la Unidad de Experimentación Animal, y de la MVZ Lucía Macías Rosales, profesional calificada de la Unidad, quienes supervisan durante toda la fase experimental que a los roedores se les otorgue un trato humanitario y que la manipulación y los suministros del alimento y de agua bebida sean los adecuados.

3.8. DISECCIÓN DE LOS ÓRGANOS DE INTERÉS

Tras la eutanasia, personal especializado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, separaron los órganos (hígado, riñones, corazón, páncreas y tejido retroperitoneal) y los fluidos de interés (sangre) de cada rata (Figuras 3.8 a, b). Adicionalmente, a cada órgano conservado en formalina al 10% en refrigeración, se le realizaron análisis histológicos de los tejidos utilizando las técnicas de tinción de Hematoxilina-Eosina o H-E, Rojo oleoso, PAS y Masson. Asimismo, personal de la Facultad de Odontología de la UNAM tomaron las cabecitas para separar los dientes, lengua, paladar, mandíbula (con glándulas salivales) para evaluar los posibles efectos que

ocasionan los edulcorantes en estos órganos. Estos estudios son parte del proyecto global pero no están incluidos sus resultados en este documento.



Figura 3.7a. Jaulas metabólicas para la recolección separada de orina

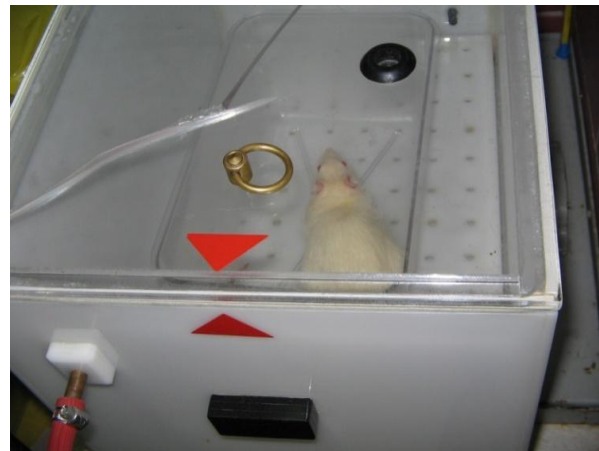


Figura 3.7.b. Cámara donde se introduce CO₂ para adormecer al espécimen



Figura 3.7c. Guillotina para roedores

3.9. ESTUDIOS QUÍMICOS EN SANGRE Y ORINA DESPUÉS DE LA EUTANASIA (Tovar-Palacio, 2009)

Una vez obtenidos los fluidos corporales, la sangre y la orina, la sangre se centrifuga a 3000 rpm durante 15 min y la orina a 3000 rpm durante 10 min para dejar el suero sanguíneo y la orina centrifugada listas para congelarse a -72°C y a -20°C.



Figura 3.8a. Diseción de los especímenes por parte de personal especializado de la FMVZ-UNAM



Figura 3.8b. Diseción del hígado especímenes por parte de personal especializado de la FMVZ-UNAM

De esas muestras, en un estudio paralelo a esta investigación, se determinan colesterol y triglicéridos y, posteriormente, se determinarán hormonas (insulina, grelina, leptina).

Estas muestras fueron analizadas con la ayuda del personal especializado del Laboratorio del Departamento de Fisiología de la Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, bajo la asesoría del Químico Guillermo Ordaz, quien colabora en este Departamento bajo la supervisión del Dr. Armando Tovar-Palacio y de la Dra. Nimbe Torres-y-Torres (Torres-y-Torres y Tovar-Palacio, 2010). El Anexo 2 presenta las metodologías seguidas.

3.10. ESTUDIOS SOBRE LA MEDICIÓN DE ARN MEDIANTE PCR

Se realizó un estudio de la reacción en cadena de la polimerasa por sus siglas en inglés (*PCR*) para verificar si había algún cambio en el tejido de hígado del cual se utilizaron los genes *SREBP1* por sus siglas en inglés, *CHREBP* y piruvato cinasa.

Estas muestras fueron analizadas con la ayuda del personal especializado del Laboratorio del Departamento de Fisiología de la Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, bajo la asesoría del Químico Guillermo Ordaz, quien colabora en este Departamento bajo la supervisión del Dr. Armando Tovar-Palacio y de la Dra. Nimbe Torres-y-Torres (Torres-y-Torres y Tovar-Palacio, 2010), como ya se mencionó arriba. El Anexo 3 señala la metodología seguida.

3.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos experimentales obtenidos se procesaron estadísticamente empleando las metodologías de análisis de varianza (Andeva) con un nivel de significancia para una $p < 0.05$ y $p < 0.01$ en donde se pudieron correlacionar, por medio de *t* de *student* de 1 y 2 vías, tanto a los jueces (días) como las muestras (lotes) empleando para ello un software denominado *Statgraphics Plus* versión 5.1, de acuerdo con las instrucciones del licenciador (Anexo 6).

Todo este estudio se realizó teniendo como antecedentes las tesis profesionales de la QA Mariana Monserrat Ortega-Gutiérrez (2010) “Desarrollo de un método por cromatografía de líquidos de alta resolución, CLAR, para la determinación de edulcorantes naturales y artificiales (acesulfame de potasio, aspartame, sucralosa, sacarina, fructosa y sacarosa)”; de los QA Juan Manuel Pérez-Rico y Carmen Alejandra Reyes-Díaz (2010) “Efecto de la ingestión crónica de edulcorantes naturales y artificiales en un modelo animal en la ganancia de masa corporal”, para el primer periodo de experimentación 104 días, quienes fueron los iniciadores de este estudio; del Pas. QA Ángel Salinas-Rivera (2011) intitulada “Colesterol, triglicéridos y glucosa en suero sanguíneo y determinación de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real en tejido hepático (*PCR-Real time*) de un modelo animal con ingestión crónica de edulcorantes energéticos e hipoenérgicos”, en proceso y la de la QA Sonia Gabriela Carrillo-Nuñez (2010,2011) “Estudios estadísticos sobre los datos de ganancia en masa corporal de animales de laboratorio que ingirieron edulcorantes en el agua potable”.

Con los datos de consumo de alimento y de edulcorantes naturales en el agua se calculó la cantidad diaria de kJ ingeridos.

Con los del consumo de bebida se calculó la cantidad de edulcorante ingerida. Para estos cálculos se usó el programa de Excel de Microsoft.

Los datos según la literatura son, para el alimento, 3.4 kcal/g (Harlan, 2009), para los edulcorantes energéticos, 3.75 kcal/g de fructosa (Jürgens y col., 2005) y 4.0 kcal/g de sacarosa (Jürgens y col., 2005).

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar el efecto de los edulcorantes y su impacto sobre el incremento de masa corporal de los especímenes bajo estudio (ratas de la cepa Wistar), se estudiaron las ratas de cada grupo de edulcorantes incluyendo el grupo de control. Los resultados de los 104 días, 197 días, 288 días de experimentación se muestran a continuación.

Se presentan los resultados para las variables de respuesta, según lo establecido en el diseño de experimentos (incremento de masa corporal, volumen ingerido, consumo de alimento, energía consumida, edulcorante ingerido).

También se analizaron los parámetros bioquímicos (concentración de glucosa, concentración de insulina, concentración de triglicéridos, concentración de colesterol), además de la determinación de los genes de la proteína de unión al elemento de respuesta de hidratos de carbono (*Carbohydrate responsive element-binding protein*, *ChREBP*, por sus siglas en inglés) y proteína de respuesta de unión a esteroides (*SREBP -1*, *Sterol regulatory element-binding protein 1*, por sus siglas en inglés). Asimismo, se incluye el análisis histológico de los órganos recolectados durante los periodos de experimentación (corazón, riñones, páncreas, tejido retroperitoneal, hígado), por medio de la tinción con Rojo de Sudán.

La información se organizó como se describe a continuación:

- a) Gráficas del comportamiento diario (promedio del valor de respuesta de las 15 ratas por edulcorante)
- b) Gráficas del comportamiento final (promedio del valor de respuesta de las 5 ratas por cada lapso de experimentación por edulcorante)
- c) El análisis de varianza del promedio final del valor de respuesta presentando a lo largo de los 104, 197 y 288 días de experimentación

- d) Comparación de medias del promedio final del valor de respuesta a lo largo de los 104, 197 y 288 días de experimentación.

4.1. INCREMENTO DE MASA CORPORAL

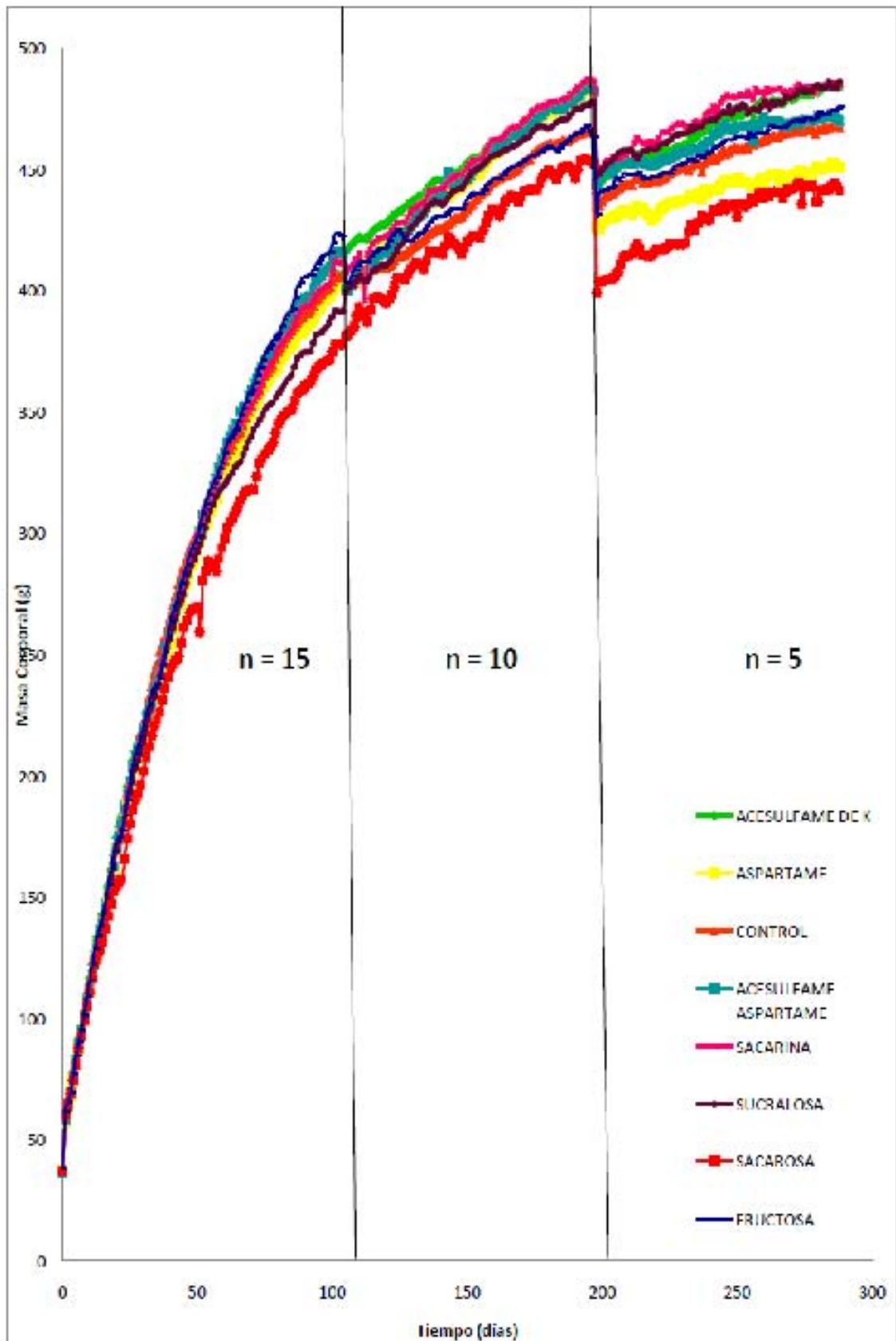
Para este capítulo se usará una forma abreviada para la nomenclatura para los edulcorantes usados durante esta investigación, la cual será la siguiente:

- Aceulfame de K (**Ace**)
- Aspartame (**Asp**)
- Control (**Cont**)
- Fructosa (**Fruc**)
- Mezcla de acesulfame de K – aspartame (**Mezc**)
- Sacarosa (**Saca**)
- Sacarina (**Sach**)
- Sucralosa (**Suc**)

En la Gráfica 4.1 se presenta el incremento de masa de los modelos de laboratorio, obtenida del registro diario (es el promedio de la masa corporal de cada día de las 15 ratas que integran un grupo durante los 104 días, 10 ratas que integran un grupo durante los 197 días, 5 ratas que integran un grupo durante los 288 días).

Se observó que, en todos los grupos, se obtuvo un incremento de masa corporal durante los seis primeros meses del experimento ya que este periodo de tiempo era cuando las ratas se encontraban en una etapa de juventud. Pudo apreciarse en la gráfica después de los días de sacrificio un pequeño decremento o una caída de la masa corporal.

Esto se debió a que se sacrificaron en cada lapso a los especímenes con la mayor masa corporal, por decisión del personal de apoyo del INCM y NSZ bajo la premisa de que al incrementarse su masa de esa forma no sobreviviría al siguiente periodo experimental. Por tal motivo se sacrificaron a las más pesadas dejando a las más ligeras para la siguiente etapa (Anexo 5). Sin embargo, en un análisis general de la literatura sobre experimentos con animales modelo, se corroboró que el sacrificio debió haberse hecho aleatoriamente. Por ello, en una siguiente etapa de la investigación, se hará de esta manera para corroborar si ésta pudo haber sido la razón de los decrementos iniciales promedio entre las etapas.



Gráfica 4.1. Promedio de la masa corporal diaria de cada edulcorante durante las etapas de experimentación

Por ello, en la parte correspondiente a cada grupo se consideraron solamente los cinco especímenes de cada etapa.

De esa misma Gráfica 4.1 se aprecia en la parte izquierda el promedio diario de la masa de las 15 ratas que formaban un mismo grupo por día, contando con un total de 104 días y 8 grupos.

En la parte intermedia están los datos de cada uno de los grupos (de 10 ratas cada uno), contando con un total de 187 días. De las últimas 5 ratas se tienen los datos promedio para los 288 días.

Los valores encontrados están alrededor de 50 g al inicio (después de la semana de adaptación) y un valor aproximado de 490 g al final de los tres periodos de experimentación.

Según este análisis global, sin realizar todavía un análisis estadístico sino solamente la comparación de las masas corporales de los especímenes, el grupo que presentó un mayor incremento de masa corporal a los 104 días fue el de fructosa y el de menor incremento de masa corporal fue el de sacarosa.

Los grupos intermedios fueron el resto de los edulcorantes hipoenergéticos junto con el grupo control. El orden decreciente de incremento en masa corporal para este primer período fue: Fructosa > Mezcla de edulcorantes (Acesulfame – Aspartame) > Sacarina > Control > Acesulfame de K > Aspartame > Sucralosa > Sacarosa.

Para la segunda etapa, de 197 días, los que presentaron un mayor incremento de la masa corporal fueron los de sacarina, seguido de los de aspartame. Los grupos que presentaron un menor incremento de masa corporal fueron el de sacarosa y el de fructosa.

Los grupos intermedios fueron el resto de los edulcorantes hipoenergéticos junto con el grupo control. El orden decreciente de incremento de masa corporal fue: Sacarina > Mezcla de edulcorantes (Acesulfame – Aspartame) > Aspartame > Acesulfame de K > Sucralosa > Control > Fructosa > Sacarosa.

Finalmente, en la tercera etapa, con un total de 288 días, donde se tenían ya solamente 5 ratas por cada grupo de edulcorantes, el que presentó un mayor incremento de la masa corporal fue el de sucralosa seguido de sacarina, los grupos que presentaron un menor

incremento de la masa corporal son sacarosa y aspartame. Los grupos intermedios fueron el resto de los edulcorantes hipoenergéticos, la fructosa y el control. El orden decreciente de incremento de masa corporal fue: Sucralosa > Sacarina > Acesulfame de K > Fructosa > Mezcla de edulcorantes (Acesulfame de k – Aspartame) > Control, Aspartame > Sacarosa.

La Tabla 4.1 presenta un resumen de los promedios de las masas corporales de los especímenes de los grupos al final de cada periodo de experimentación. Se realizó un análisis estadístico con el objetivo de conocer si los edulcorantes utilizados explicaban una variabilidad del incremento de masa corporal en las ratas.

Tabla 4.1. Promedios de masa corporal para cada lapso de experimentación

	0 días (n=15)	104 días (n=15)	197 días (n=10)	288 días (n=5)
EDULCORANTE	MASA ± DES	MASA ± DES	MASA ± DES	MASA ± DES
CONT	37.3 ± 6.4	406.6 ± 30.9	465.5 ± 51.1	467.5 ± 18.3
ACE	38.2 ± 6.3	405.9 ± 43.7	480.7 ± 55.0	483.9 ± 69.2
ASP	37.6 ± 4.5	402.7 ± 38.7	482.0 ± 74.9	450.9 ± 32.4
MEZC	36.4 ± 6.9	415.5 ± 46.1	482.3 ± 53.0	470.2 ± 46.6
SACH	38.0 ± 7.0	411.7 ± 45.8	486.3 ± 71.5	485.1 ± 36.2
SUC	37.5 ± 5.8	391.5 ± 41.3	477.8 ± 41.9	486.2 ± 30.7
FRUC	37.8 ± 5.0	422.9 ± 47.7	463.5 ± 55.8	476.3 ± 54.4
SACA	37.1 ± 5.4	378.2 ± 45.1	451.9 ± 83.4	441.0 ± 39.8

DES = Desviación estándar, n = número de especímenes

Como se mencionó en la metodología, la variable de respuesta (incremento de masa corporal) se calculó como la diferencia de masa inicial (día uno) y la masa final (día 104, 197 y 288) para cada animal de cada grupo. Se utilizó una $\alpha = 0.05$ y una $n = 5$. El análisis de varianza descompone la variabilidad del incremento de masa entre dos componentes: los grupos de edulcorantes y las ratas de cada grupo. A continuación se presenta la información obtenida.

4.1.1. ANÁLISIS INTERGRUPOS: Primer etapa de 104 días

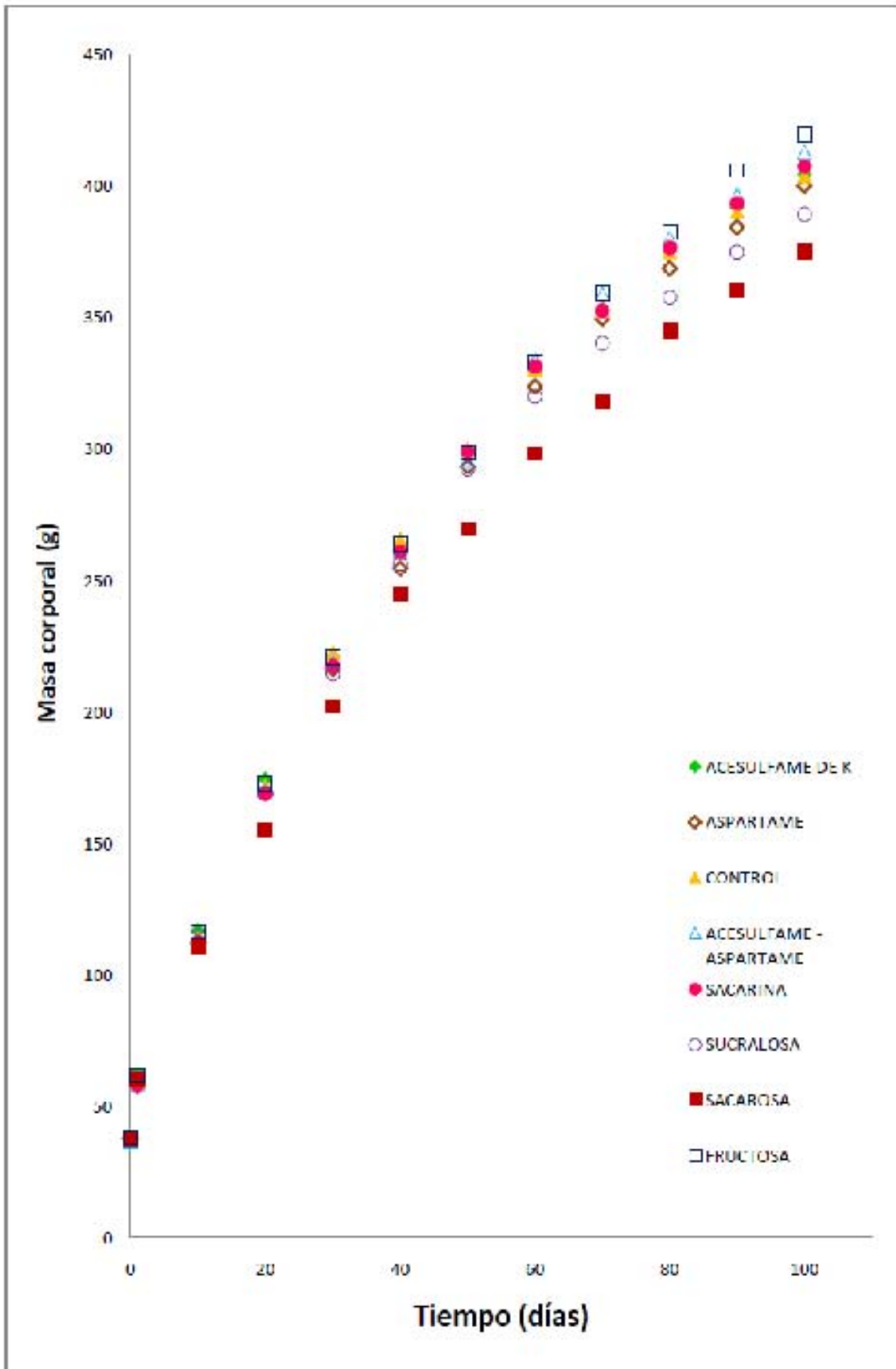
En la Gráfica 4.2 se presentan los datos del incremento de la masa corporal durante el primer periodo de experimentación (104 días). Se apreció un incremento de manera exponencial, debido a que los animales modelo se encuentran en su etapa de crecimiento (infancia y pubertad).

Para realizar el análisis estadístico de esta primera etapa podrían tomarse los 15 especímenes de cada grupo o solamente los cinco que fueron sacrificados. En esta investigación se tomó la segunda opción, justamente por lo mencionado de haber realizado la eutanasia a los especímenes de mayor masa corporal, por acuerdo de los investigadores de este proyecto suponiendo que con el incremento mostrado no habrían sobrevivido al siguiente tercio de la experimentación. Considerando entonces para el análisis estadístico solamente a las cinco ratas que fueron sacrificadas en este período, el grupo que presentó la mayor ganancia en masa corporal fue el grupo de la sal de la mezcla de acesulfame de K y aspartame siendo estadísticamente significativo, en vez del de la fructosa, seguido en este caso de los siguientes grupos: el de fructosa, el de sacarina, el control, el de aspartame, el de acesulfame de K, el de sacarosa y, el de la sucralosa. Debe mencionarse que, en la investigación anterior (Pérez-Rico y Reyes-Díaz, 2010), se tomaron solamente cuatro para todos los grupos porque una rata del grupo de acesulfame de potasio tuvo hidrocefalia y falleció en la semana 4 de experimentación (rata 120). En esta investigación se tomó para ese grupo específico el promedio de los cuatro especímenes sacrificados y ese valor se consideró como el quinto valor para ese grupo. Tomando las siguientes hipótesis:

H_0 = No hay diferencia en el incremento de masa corporal de las ratas en estudio, para cada edulcorante y H_1 = Sí hay diferencia en el incremento de masa corporal de las ratas en estudio, para al menos un edulcorante.

en la Tabla 4.2 se aprecia que el valor de F calculado, en este caso es igual a 3.79, representando el cociente de la estimación entre los grupos y la estimación que existe dentro de los grupos. Como el valor de P es menor a 0.05 es indicativo de que existe una **diferencia significativa** entre el incremento de masa corporal y el tipo de edulcorante ingerido para un nivel de confianza del 95%. Es decir, se puede afirmar con un 95% de confianza ($\alpha=0.05$), que la variabilidad del aumento de masa corporal en el periodo de los 104 días dependió del tipo de edulcorante que consumieron las ratas en estudio ya que era la única variable dependiente diferente entre los grupos (Gráfica 4.3).

Para conocer a los edulcorantes que presentaron una diferencia significativa, se utilizó el método de las diferencias mínimas significativas (*LSD* por sus siglas en inglés) con una $\alpha=0.05$.

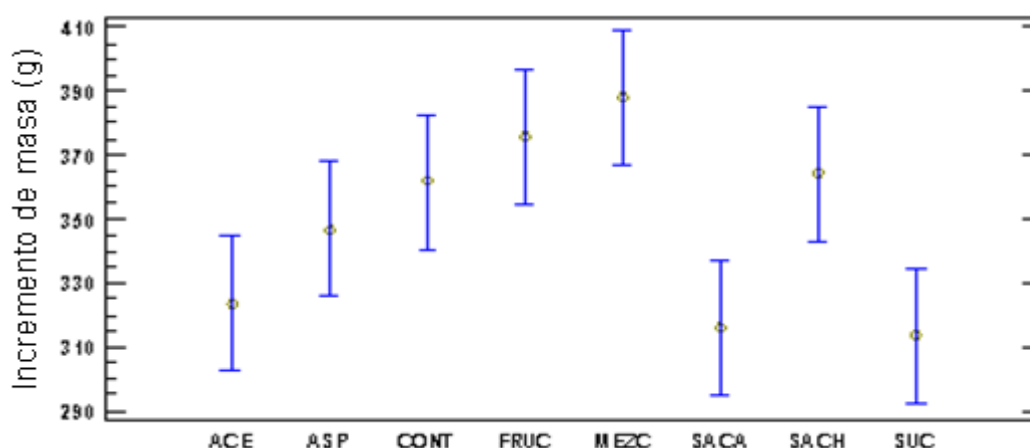


Gráfica 4.2. Masa corporal (104 días, n=5)

Tabla 4.2. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la diferencia de masa final y masa inicial durante los primeros 104 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	28325.7	7	4046.53	3.79	0.0042
Intra grupos	34186.8	32	1068.34		
Total	62512.5	39			

FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor-P=significancia observada



Gráfica 4.3. Comparación entre medias del promedio del incremento en masa corporal a los 104 días por edulcorante, empleando un $\alpha= 0.05$

Los resultados se presentan en la Tabla 4.3, en la cual se aprecia que los grupos que presentaron una diferencia significativa fueron los siguientes: Ace – fruc; ace – mezc; cont – saca; cont – suc; fruc – saca; fruc – suc; mezc – saca; mezc – suc; saca – sach; sach – suc.

Con base en el análisis estadístico de los cinco especímenes (ver Tablas 4.2, 4.3), se aprecia que los grupos de animales que tuvieron acceso al agua endulzada con la mezcla de edulcorantes (Acesulfame de K–Aspartame) y a la endulzada con fructosa, presentaron un incremento de masa (luego de los 104 días del consumo) significativamente mayor (menor a $\alpha=0.05$), a los grupos que bebieron acesulfame de K, sacarosa y sucralosa pero no con el resto de los grupos.

Para los grupos de cuatro ratas el análisis estadístico dio los mismos resultados. Con el análisis de los 15 especímenes el análisis estadístico dio el mismo resultado.

Tabla 4.3. Contraste múltiple de rango para el promedio del incremento de masa durante los 104 días según el tipo de edulcorante (de mayor a menor masa corporal)

Método LSD usando 95%			
EDULCORANTE	Media	Contraste	Diferencias
SUC	313.44a	Ace – fruc	-52.3*
SACA	315.9a	Ace – mez	-64.6*
ACE	323.58ab	Cont- saca	45.94*
ASP	346.84abc	Cont- suc	48.4*
CONT	361.84bc	Fruc – saca	59.98*
SACH	364.24bc	Fruc – suc	62.44*
FRUC	375.88c	Mez – saca	72.28*
MEZC	388.18c	Mez – suc	74.74*
		Saca – sach	-48.34*
		Sach – suc	50.8*

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa

Analizando estadísticamente los datos de los grupos dependiendo del tipo de edulcorante de tres diferentes formas, considerando todos los especímenes (Carrillo-Núñez, 2010), replicando lo que se hizo en el experimento anterior de usar solamente 4 ratas al azar (Pérez-Rico y Reyes-Díaz, 2010) y, tomando las 5 que fueron sacrificadas (este estudio), se observa que los grupos se comportaron como sigue:

Ganancia en masa corporal (sin análisis estadístico)	Análisis estadístico de 15 ratas (Carrillo-Núñez, 2010)	Análisis estadístico de 4 ratas (Pérez-Rico y Reyes-Díaz, 2010)	Análisis estadístico de 5 ratas (esta investigación)
Fructosa	Fructosa	Mezcla de edulcorantes (Acesulfame-Aspartame)	Mezcla de edulcorantes (Acesulfame-Aspartame)
> Mezcla de edulcorantes (Acesulfame-Aspartame)	> Mezcla de edulcorantes (Acesulfame-Aspartame)	> Sacarina	> Fructosa
> Sacarina	> Sacarina	> Fructosa	> Sacarina
> Control	> Control	> Control	> Control
> Acesulfame de K	> Acesulfame de K	> Aspartame	> Acesulfame de K
> Aspartame	> Aspartame	> Acesulfame de K	> Aspartame
> Sucralosa	> Sucralosa	> Sucralosa	> Sucralosa
= Sacarosa	= Sacarosa	= Sacarosa	= Sacarosa

Puede verse que las diferentes formas de analizar la ganancia de masa corporal (sin análisis estadístico) y el análisis estadístico de 15 ratas (Carrillo-Núñez, 2010) los grupos de los distintos edulcorantes muestran la misma tendencia, en primer lugar, con la mayor masa corporal es el grupo de la Fruc < mezc < sach < cont < ace < asp < suc = saca.

Para el análisis estadístico de 4 ratas (Pérez-Rico y Reyes-Díaz, 2010) y el análisis estadístico de 5 ratas en esta investigación, para los distintos grupos de edulcorantes presentan la misma tendencia, con la mayor masa corporal se encuentra el grupo de la mezc < sach < fruc < cont < asp < ace < suc = saca.

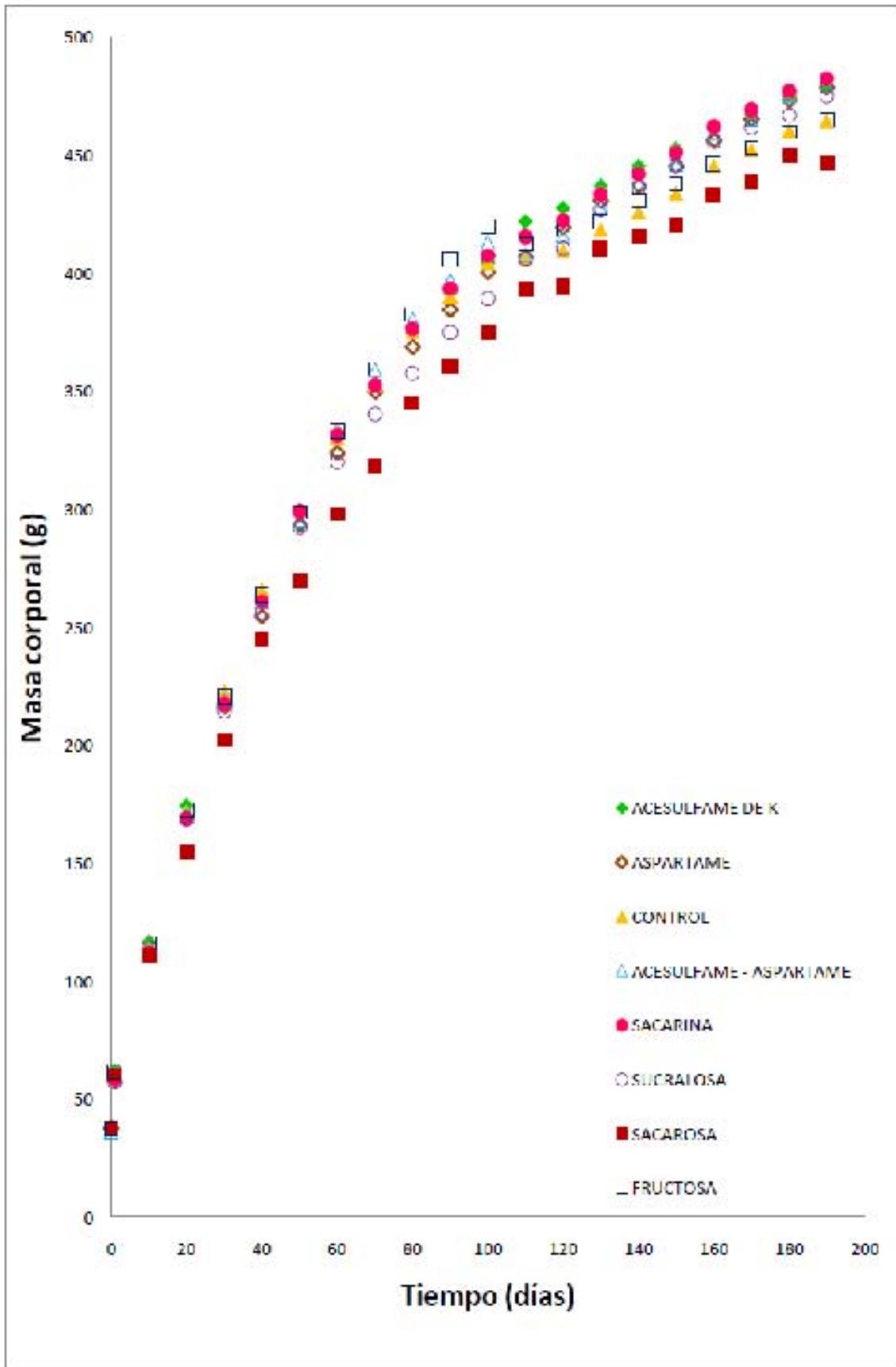
4.1.2. ANÁLISIS INTERGRUPOS: Segunda etapa de 197 días

En la Gráfica 4.4 se presentan los datos del incremento de la masa corporal durante la segunda etapa de experimentación (197 días). Puede apreciarse que el incremento ya no es de una manera exponencial, debido a que los animales modelo se encuentran en su etapa de primera adultez, ya no en la de crecimiento.

Viendo los datos sin considerar la parte estadística y comparando con el resultado del análisis estadístico de Carrillo-Núñez (2010) y el de solamente las 5 ratas que fueron sacrificadas, se observa que los grupos se comportaron como sigue:

Ganancia en masa corporal (sin análisis estadístico) (n=10)	Análisis estadístico de 10 ratas (Carrillo-Núñez, 2010)	Análisis estadístico de 5 ratas (esta investigación)
Sacarina	Sacarina	Aspartame
> Aspartame	> Aspartame	> Sacarina
> Mezcla de edulcorantes (Acesulfame – Aspartame)	> Mezcla de edulcorantes (Acesulfame – Aspartame)	> Mezcla de edulcorantes (Acesulfame – Aspartame)
> Acesulfame de K	> Acesulfame de K	> Sucralosa
> Sucralosa	> Sucralosa	> Acesulfame de K
> Control	> Control	> Sacarosa
> Fructosa	> Fructosa	> Fructosa
> Sacarosa	> Sacarosa	> Control

Esto indica que, para las diferentes formas de analizar los datos de la ganancia de masa corporal sin análisis estadístico para 10 ratas, así como el análisis estadístico de 10 ratas (Carrillo-Núñez, 2010) y, finalmente, el análisis estadístico de 5 ratas de esta investigación, los grupos con la mayor masa corporal fueron los edulcorantes hipoenergéticos sach < asp < mezc < ace < suc, seguido del grupo control.



Gráfica 4.4. Masa corporal (190 días, n=10)

Los grupos con la menor masa corporal son los edulcorantes energéticos y, de manera interesante, fruc < saca (no para el día 190 sino para el 197). Este hallazgo deberá ser estudiado en el futuro ya que es en el único caso en que esto ocurrió. Se observa que el grupo que presenta la mayor masa corporal fue el de aspartame, seguido de los siguientes grupos: sacarina, mezcla de acesulfame de K y aspartame, sucralosa, acesulfame de K, sacarosa, fructosa y, finalmente, el control (Tabla 4.4, Gráfica 4.5).

Tabla 4.4. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la diferencia de masa final e inicial durante el lapso de 197 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	9697.28	7	1385.33	0.43	0.8756
Intra grupos	102933	32	3216.67		
Total	112631	39			

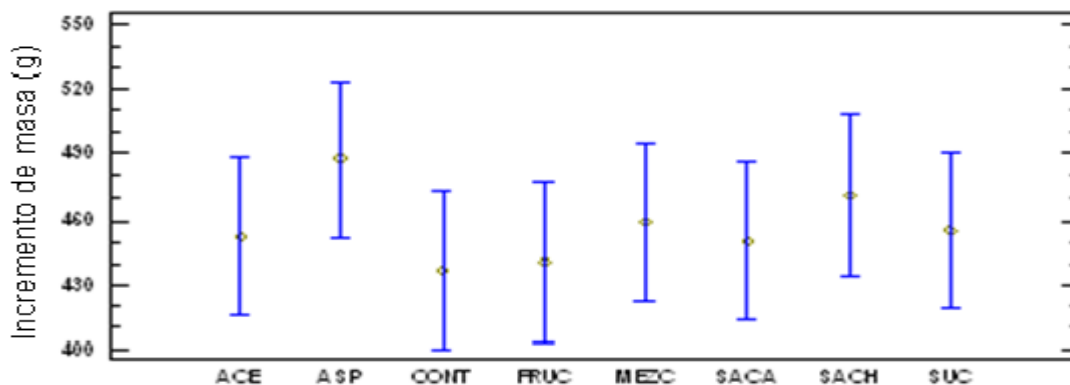
Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor-P=significancia observada

Para conocer a los edulcorantes que presentaron una diferencia significativa, se utilizó el método de diferencias mínimas significativas (*LSD* por sus siglas en inglés) con una $\alpha=0.05$.

Los resultados se presentan en la Tabla 4.5, en la cual se aprecia que **no hay diferencias significativas** entre los grupos.

Tabla 4.5. Contraste múltiple de rango para el promedio del incremento de masa durante a los 197 días según el tipo de edulcorante (de la más ligera a la más pesada)

Método LSD usando 95%	
EDULCORANTES	Media
CON	436.58
FRUC	440.3
SACA	449.6
ACE	451.94
SUCH	454.76
MEZC	458.96
SACH	471.14
ASP	487.94



Gráfica 4.5. Comparación entre medias del promedio del incremento en masa corporal a los 197 días por cada grupo de edulcorante, empleando un $\alpha=0.05$

4.1.3. ANÁLISIS INTERGRUPOS: Tercera etapa de 288 días

En la Gráfica 4.6 se presentan los datos del incremento de la masa corporal durante la tercera etapa de experimentación (288 días de investigación).

Los grupos presentaron el siguiente orden:

Ganancia en masa corporal (sin análisis estadístico) (n=5)	Análisis estadístico de 5 ratas (Carrillo-Núñez, 2010)	Análisis estadístico de 5 ratas (esta investigación)
Sucralosa	Acesulfame de potasio	Acesulfame de potasio
> Sacarina	> Sucralosa	> Sucralosa
> Acesulfame de K	> Sacarina	> Sacarina
> Fructosa	> Fructosa	> Fructosa
> Mezcla de edulcorantes (Acesulfame – Aspartame)	> Mezcla de edulcorantes (Acesulfame – Aspartame)	> Mezcla de edulcorantes (Acesulfame -Aspartame)
> Control	> Control	> Control
> Aspartame	> Aspartame	> Aspartame
> Sacarosa	> Sacarosa	> Sacarosa

Esto indica que para las diferentes formas de analizar los datos de la ganancia de masa corporal sin análisis estadístico para 5 ratas, el análisis estadísticos de 5 ratas (Carrillo-Núñez, 2010) y finalmente el análisis estadístico de 5 ratas de esta investigación los grupos presentan el mismo comportamiento, los grupos que presentaron la mayor masa corporal son los edulcorantes hipocalóricos, ace < suc < sach < fruc < mezc < cont < asp < saca.

Puede apreciarse que el incremento sigue manteniéndose con un aumento muy ligero debido a que los animales modelo se encuentran en su etapa de adultez. Como en los dos casos anteriores, para evaluar si había diferencias estadísticamente significativas se hizo el análisis de varianza correspondiente (Tabla 4.6).

Tabla 4.6. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la diferencia de masa final y masa inicial durante los 288 días según el tipo de edulcorante

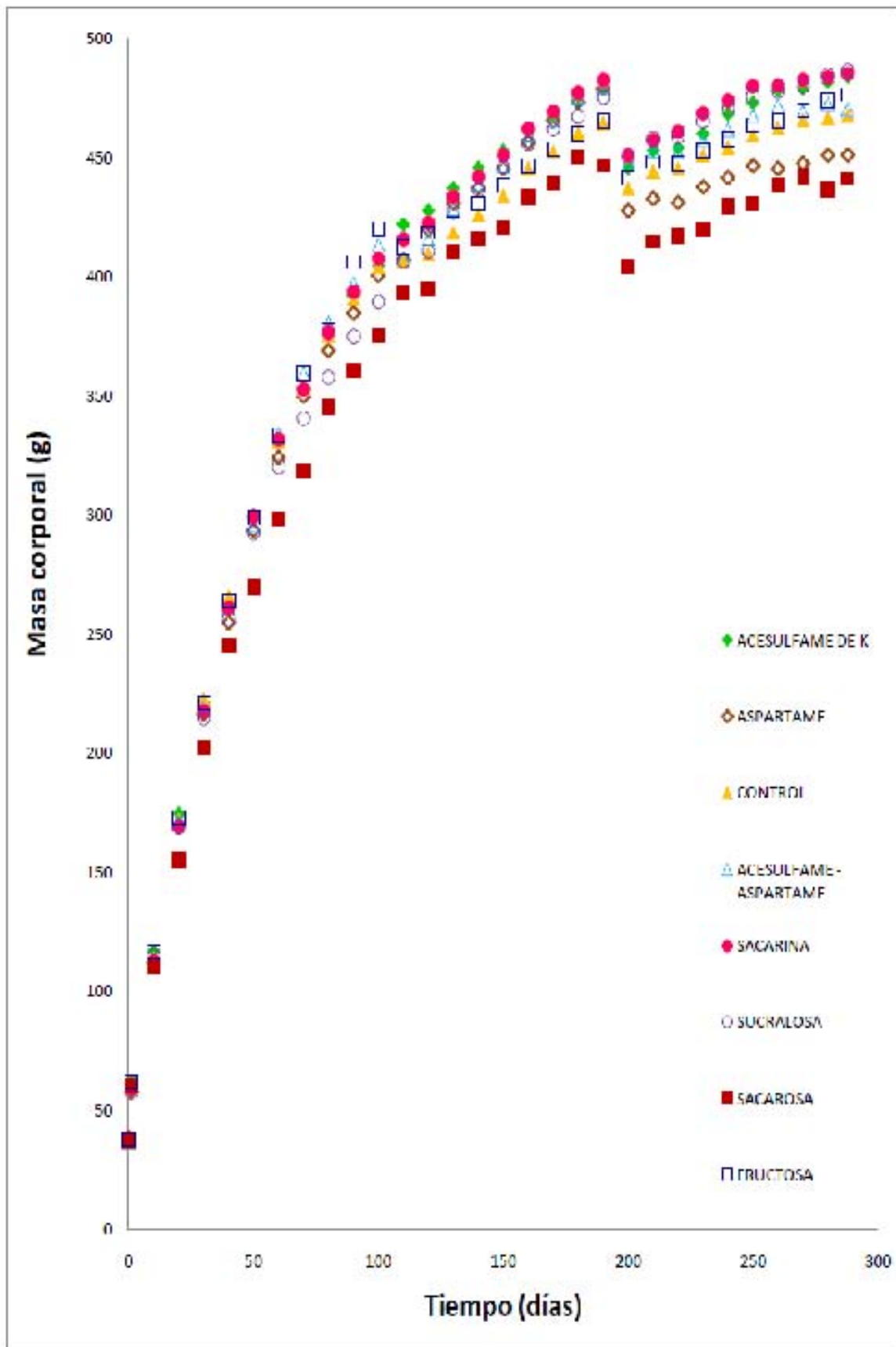
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	11048.9	7	1578.41	1.04	0.4264
Intra grupos	48784.3	32	1524.51		
Total (Corr.)	59833.2	39			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor-P=significancia observada

En la Tabla 4.6 se descompone la varianza del incremento de masa corporal en dos componentes entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. Como ya se mencionó, si el Valor-P del Coeficiente-F es mayor o igual que 0.05, se determina que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de incremento de masa corporal con respecto al edulcorante ingerido, con un nivel del 95% de confianza. Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor media se realizó una comparación de medias utilizando el procedimiento de diferencias mínimas significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$. Los resultados se presentan en la Tabla 4.7, donde se observa que no hay diferencias estadísticamente significativas.

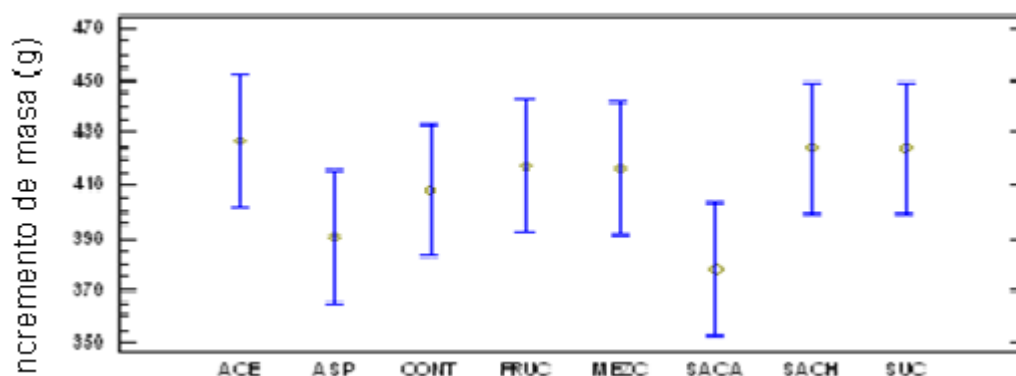
Tabla 4.7. Contraste múltiple de rango para el promedio del incremento de masa durante a los 288 días según el tipo de edulcorante

<i>Método LSD usando 95%</i>	
EDULCORANTE	Media
SACA	377.8
ASP	390.44
CONT	408.22
MEZC	416.56
FRUC	417.12
SACH	424.28
SUC	424.4
ACE	426.92



Gráfica 4.6. Masa corporal (288 días n=5)

Haciendo un análisis general de los datos de ganancia en masa corporal de los 119 especímenes, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos y la única variable diferente (el tipo de edulcorante) para la etapa de crecimiento exponencial, pero para la etapa de adultez ya no hubo diferencias significativas entre los grupos según la Gráfica 4.7.



Gráfica 4.7. Comparación entre medias del promedio del incremento en masa durante 288 días por edulcorante, empleando un $\alpha=0.05$

A pesar de no haber diferencias significativas en la adultez, algo que llama la atención es que para los tres bloques de experimentación los grupos que presentaron la más alta masa corporal son los edulcorantes hipoenergéticos y la fructosa.

De acuerdo con los investigadores Mace y col. (2007), quienes trabajaron con ratas e investigaron si había un sistema de recepción del sabor dulce que regulara la ruta metabólica del GLUT2 apical, usaron sucralosa en concentración de 1mM, acesulfame de potasio (1mM) y sacarina (1mM) sobre la absorción de glucosa (20 a 100mM) perfundidas en el yeyuno *in vivo*. Sus resultados fueron que, a pesar de que los edulcorantes artificiales no se absorben y/o metabolizan, estimulan la absorción de la glucosa obtenida de la dieta.

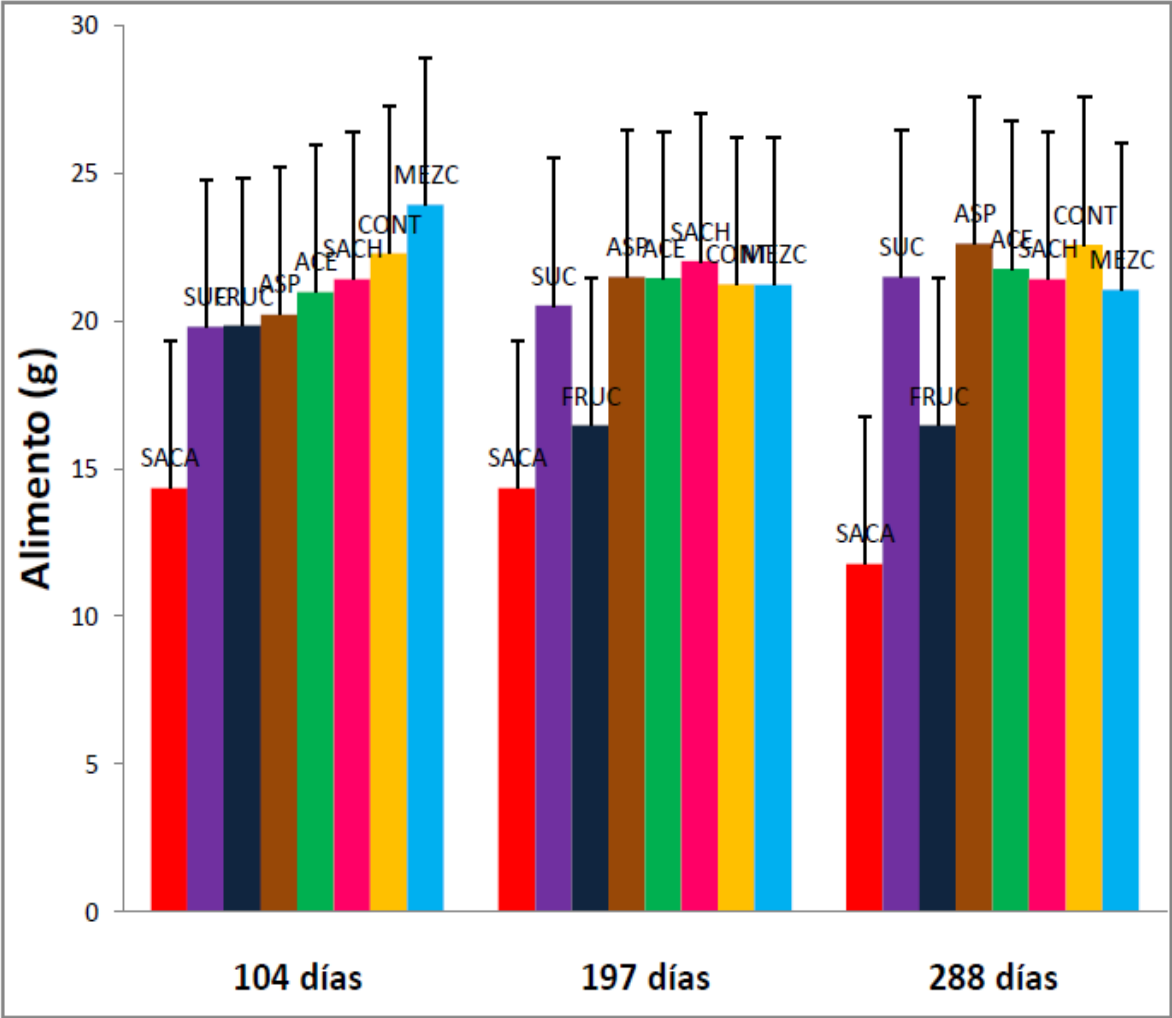
La glucosa actúa en el rango de 30-100mM, mientras que los edulcorantes artificiales actúan en el de 1-2mM. Estos autores señalan que los edulcorantes artificiales incrementan la absorción de la glucosa en el siguiente orden: Acesulfame de potasio \approx sucralosa > sacarina, en paralelo con su capacidad o habilidad para incrementar la concentración de calcio intracelular.

Las observaciones de los autores son que los edulcorantes artificiales son nutrimentalmente activos ya que pueden enviar señales a un sistema de recepción que incrementa la absorción de glucosa durante una comida, lo cual tiene amplias implicaciones para la

sensación de los nutrimentos y para la nutrición en el tratamiento de la obesidad y de la diabetes.

4.1.4. Correlación entre la ingesta diaria de alimento y la ganancia en masa corporal

En la Gráfica 4.8 se encuentran los promedios de ingesta de alimento durante los 3 lapsos de estudio. Las Tablas 4.8 a 13 presentan los resultados de los análisis estadísticos.



Gráfica 4.8. Promedios del consumo diario de alimento (n=120, 104 días; n=80, 197 días; n=40, 288 días)

A los 104 días el grupo que presenta la mayor ingesta de alimento es el de la mezcla (aspartame y acesulfame K) y este mismo grupo presenta uno de los mayores incrementos de masa corporal con diferencia significativa ($p < 0.05$). El grupo que presenta la menor ingesta de alimento es el de la sacarosa y, aunque como se verá después, su consumo energético es similar a los de los otros grupos por el azúcar adicionada a su agua, tiene el

menor incremento de la masa corporal con diferencia significativa ($p < 0.05$). Ver Tablas 4.8 y 9.

Para el segundo bloque, de 197 días de experimentación, el grupo que presenta la mayor ingesta de alimento es el de la sacarina y presenta una alta masa corporal con una mínima diferencia significativa (Tablas 4.10 y 11). Los grupos que presentan la menor ingesta de alimento son los grupos de la fructosa y la sacarosa y sus masas corporales están dentro de las tres menores (control > fructosa > sacarosa).

Para el tercer bloque de tiempo, 288 días de experimentación, el grupo que presenta la mayor ingesta de alimento es el del aspartame aunque no es el de mayor masa (Tablas 4.12 y 13). El grupo que presenta la menor ingesta de alimento es el grupo de la sacarosa, así como la menor masa corporal.

A continuación se analizan estadísticamente estos datos.

4.1.4.1. Análisis estadístico intergrupos: Primer etapa de 104 días

En la Gráfica 4.8 se muestra el alimento consumido diario a los 104 días de experimentación en la cual el grupo que presenta la mayor ingesta de alimento que es significativamente diferente es el de la mezcla (acesulfame K y aspartame) y el de menor ingesta, como ya se mencionó, es el grupo de la sacarosa. Con esta parte del análisis estadístico se pueden conocer las diferencias significativas entre los grupos durante los tres bloques de tiempo. Estos son datos obtenidos del análisis estadístico ANDEVA (ANOVA por sus siglas en inglés). Las hipótesis para esta parte del análisis son las siguientes:

H_0 = No hay diferencia en la cantidad de alimento ingerido por las ratas en estudio, debido a los edulcorantes consumidos.

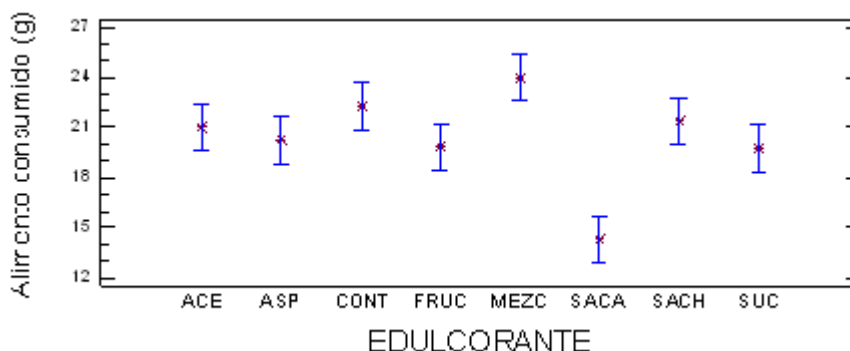
H_1 : Sí hay diferencia en la cantidad de alimento ingerido por las ratas en estudio, para al menos un edulcorante consumido

Con esto se puede definir si el consumo de algunos de los edulcorantes a estudiar interviene en el consumo de alimento, ya sea para que se aumente la ingesta o para que disminuya (Tabla 4.8 y Gráfica 4.9).

Tabla 4.8. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del alimento a los 104 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	274.272	7	39.1817	8.32	0.0000
Intra grupos	150.628	32	4.70713		
Total	424.9	39			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada



Gráfica 4.9. Comparación entre medias del promedio de alimento consumido a los 104 días de experimentación, ($\alpha=0.05$)

En la Tabla 4.9, donde se encuentra la información sobre el alimento ingerido diariamente, se pudo apreciar que para el primer bloque de experimentación, de 104 días, sí hay diferencias significativas entre los grupos.

El que presenta la menor masa corporal es el de la sacarosa, el cual ingiere 14.34 g/d de alimento y es diferente significativamente ($p < 0.05$) a todos los grupos. Esto parece corroborar lo publicado por Parks y Hellerstein (2000) y por Stanhope y colaboradores (2009), quienes señalan que la fructosa se metaboliza de manera diferente a la glucosa.

Aunque la sacarosa se rompe en el aparato digestivo en glucosa y fructosa, esta última parece tener menos influencia en la ganancia en masa corporal que cuando se ingiere sola. Este hallazgo indica la necesidad de continuar estudiando estos efectos de los edulcorantes energéticos o naturales.

El grupo que presenta una mayor masa corporal es la mezcla de edulcorantes, ingiriendo 23.94 g/d de alimento. La diferencia es estadísticamente significativa del resto de los grupos, excepto sacarina y control.

Tabla 4.9. Contraste múltiple de rango para el promedio del alimento consumido diario a los 104 días según el tipo de edulcorante

Método LSD usando 95%			
EDULCORANTE	Media ± DES	Contraste	Diferencia
SACA	14.34a ± 1.28	Ace – mezc Ace – saca	*-2.96 *6.64
SUC	19.8b ± 3.25	Asp – mezc Asp – saca	*-3.72 *5.88
FRUC	19.84b ± 2.00	Cont – saca	*7.94
ASP	20.22b ± 1.64	Fruc – mezc	*-4.1
ACE	20.98b ± 1.39	Fruc – saca	*5.5
SACH	21.42bc ± 2.81	Mezc– saca	*9.6
CONT	22.28bc ± 2.17	Mezc – suc	*4.14
MEZC	23.94c ± 2.02	Saca – sach Saca - suc	*-7.08 *-5.46

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa

4.1.4.2. Análisis estadístico intergrupos: Segunda etapa de 197 días

En la Gráfica 4.10 se presentaron los datos obtenidos estadísticamente del alimento ingerido por los grupos de edulcorantes durante la segunda etapa de experimentación que son 197 días de investigación, el grupo que presentó la mayor ingesta de alimento fue el grupo de sacarina, seguido del de aspartame, de acesulfame de K, del control, de la mezcla de acesulfame de K y de aspartame, de sucralosa, de fructosa y el menor ingesta de alimento es el grupo de la sacarosa.

En la Tabla 4.10, se puede apreciar que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media del alimento consumido entre un nivel de tiempo y otro. Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de diferencias mínimas significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados se presentan en la Tabla 4.11.

Tabla 4.10. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del alimento acumulado a los 197 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l	CM	F	P>0.05
Entre grupos	280.346	7	40.0494	17.12	0.0000
Intra grupos	74.872	32	2.33975		
Total	355.218	39			

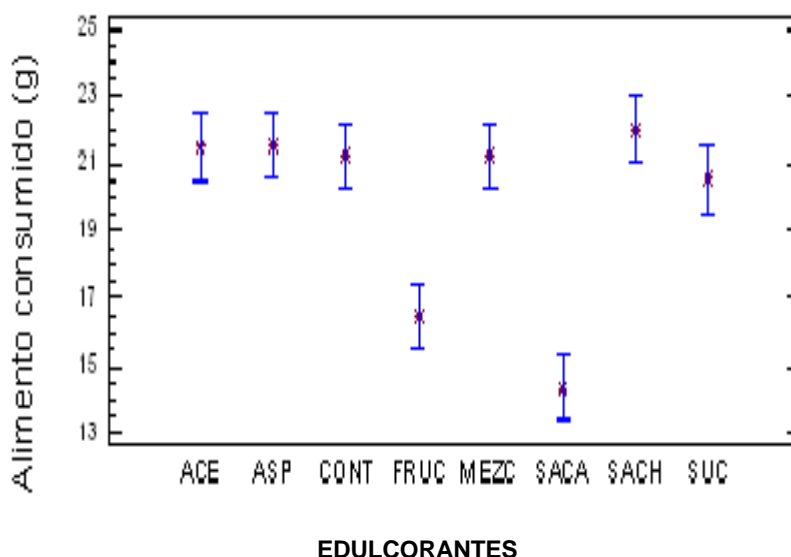
Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Tabla 4.11. Contraste múltiple de rango para el promedio del consumo de alimento en g a los 197 días según el tipo de edulcorante

Método LSD usando 95%			
EDULCORANTE	Media ± DES	Contraste	Diferencia
SACA	14.34 ^a ± 2.66	Ace – fruc	*4.98
FRUC	16.46 ^b ± 0.69	Ace – saca	*7.1
SUC	20.52 ^c ± 1.01	Asp – fruc	*5.04
MEZC	21.22 ^c ± 0.78	Asp – saca	*7.16
		Cont – fruc	*4.78
CONT	21.24 ^c ± 0.94	Cont – saca	*6.9
		Fruc – mezc	*-4.76
ACE	21.44 ^c ± 1.34	Fruc – saca	*2.12
		Fruc – sach	*-5.56
ASP	21.5 ^c ± 2.03	Fruc – suc	*-4.06
		Mezc – saca	*6.88
SACH	22.02 ^c ± 1.62	Saca – sach	*-7.68
		Saca – suc	*-6.18

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa.

Para este segundo bloque, 197 días, el grupo que presenta la menor masa corporal significativamente es el de la sacarosa, ingiriendo 14.34 g de alimento por día. El grupo de la sacarina, ingiriendo 22.02 g de alimento por día, es el del más alto consumo de alimento y es el segundo grupo de mayor masa corporal. Significativamente esta diferencia se muestra en la Gráfica 4.10.



Gráfica 4.10. Comparación entre medias del promedio del alimento consumido a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.1.4.3. Análisis estadístico intergrupos: Tercera etapa de 288 días

En la Gráfica 4.8 se presentaron los datos del alimento ingerido por los grupos de edulcorantes durante la tercer etapa de experimentación, 288 días, donde se aprecia que en algunos grupos hay un incremento del consumo de alimento y otros una disminución del mismo, con respecto de los otros tiempos de experimentación.

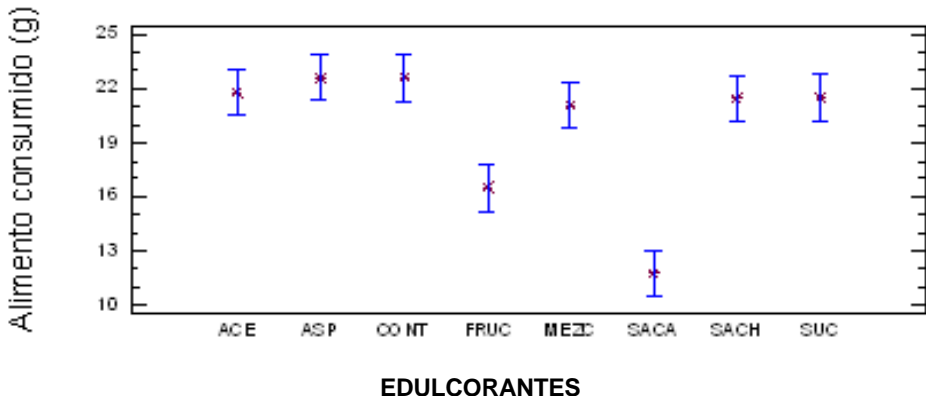
El grupo que presentó la mayor ingesta de alimento fue el grupo del aspartame, seguido de los grupos de control, acesulfame de K, sucralosa, sacarina, mezcla de acesulfame de K y aspartame, fructosa y, finalmente, sacarosa.

La Tabla 4.12 y la Gráfica 4.11 muestran que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media del alimento consumido entre un nivel de tiempo y otro.

Tabla 4.12. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del alimento ingerido durante los 288 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	510.122	7	72.8745	18.58	0.0000
Intra grupos	125.488	32	3.9215		
Total	635.61	39			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada



Gráfica 4.11. Comparación entre medias del promedio del alimento consumido a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de diferencias mínimas significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ (Tabla 4.13). Para el tercer bloque de experimentación, 288 días (288 días), el grupo que presentó el menor consumo de alimento es el de la sacarosa ingiriendo 11.78 g de alimento por día y el grupo que presentó el valor mayor fue el de la aspartame, consumiendo 21 g de alimento diariamente. Los resultados se pueden apreciar en la Tabla 4.13.

Tabla 4.13. Contraste múltiple de rango para el promedio del alimento consumido a 288 días según el tipo de edulcorante

Método LSD usando 95%			
EDULCORANTE	Media ± DES	Contraste	Diferencia
SACA	11.78 ^a ± 1.55	Ace – fruc	*5.3
FRUC	16.46 ^b ± 1.41	Ace - saca	*9.98
MEZC	21.06 ^c ± 2.65	Asp – fruc	*6.16
SACH	21.42 ^c ± 1.24	Asp – saca	*10.84
		Cont – fruc	*6.12
SUC	21.5 ^c ± 0.96	Cont – saca	*10.8
		Fruc – mezc	*-4.6
ACE	21.76 ^c ± 1.77	Fruc – saca	*4.68
		Fruc – sach	*-4.96
CONT	22.58 ^c ± 1.21	Fruc – suc	*-5.04
		Mezc – saca	*9.28
ASP	22.62 ^c ± 3.57	Saca – sach	*-9.64
		Saca– suc	*-9.72

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y el * indican una diferencia significativa

4.1.5. Discusión de los hallazgos

Las medias arrojadas por el programa estadístico del alimento ingerido diario de cada grupo de edulcorantes, en cada lapso y con una $n = 5$ indican que se tiene, para el primer bloque de tiempo, que el grupo que presenta la mayor ingesta de alimento es el de la mezcla de acesulfame de K y aspartame con 23.94 g. Para el segundo bloque de experimentación, el grupo que presentó la mayor ingesta de alimento es el de la sacarina con 22.02 g. Para el tercer y último bloque de experimentación el grupo que presentó la mayor ingesta de alimento es el de aspartame con 22.62 g. Es importante observar que para estos valores máximos de alimento consumido están los de los grupos hipoenergéticos, indicando que el edulcorante no afecta el apetito ya que consumen lo mismo que el grupo control. Para los 3 bloques de experimentación el grupo que presentó el menor consumo de alimento es el de la sacarosa con: 14.34 g de alimento al día para los 104 días de experimentación, 14.34 g de alimento al día para los 197 días de experimentación y, finalmente, 11.78 g de alimento al día para los 288 días de experimentación, mostrando en cada bloque de experimentación una mínima diferencia estadísticamente significativa con respecto de los demás grupos. Este grupo del edulcorante energético (sacarosa) fue el que presentó la menor masa corporal, significativamente, durante los 3 periodos de experimentación. El hecho de que fuera el grupo con la menor ingesta del alimento era esperable ya que la suma de la ingesta energética del alimento y el azúcar en la bebida era suficiente para su subsistencia, pero no

lo de que con esa ingesta energética tuviera la menor masa corporal, corroborando los resultados del estudio precedente (Martínez y col., 2010), que indicaría que no toda la energía consumida es metabolizada a masa corporal como parece estar ocurriendo con los otros grupos. Este hallazgo merece ser estudiado a más profundidad para explicar el por qué cuando la sociedad consumía azúcar no había problemas de obesidad y sobrepeso y ahora sí los hay.

Los grupos que presentaron la mayor masa corporal significativamente fueron los de la fructosa y los demás edulcorantes hipoenergéticos, a pesar de ingerir una menor o igual cantidad de alimento que el control. Bray y col. (2004), así como Stanhope y col. (2009) explican que el metabolismo de la fructosa es diferente al de la glucosa. Por ejemplo, la glucosa entra a las células por un mecanismo de transporte (Glut) el cual es dependiente de la insulina en la mayor parte de los tejidos. La insulina activa a su receptor que, a su vez, aumenta la cantidad de transportadores de glucosa en la superficie celular y se facilita su entrada. Ya dentro de la célula, la glucosa es fosforilada por la glucoquinasa para convertirse en glucosa-6-fosfato donde el metabolismo celular comienza. Las enzimas que participan en esta vía pueden controlar la conversión de glucosa-6-fosfato para obtener el glicerol el cual es la columna vertebral de los triglicéridos, por la modulación de la fosfofructoquinasa. En cambio, a diferencia de la glucosa, la fructosa entra en las células por un mecanismo de transporte GLUT-5, transporte que no depende de la insulina, como se mencionó en el inciso 2.3.2.2 (Tappy y Lee, 2010). Estando así, la fructosa es fácilmente cortada por las aldosas para obtener triosas que son la columna vertebral para la síntesis de fosfolípidos y triacilglicerol. Para los grupos de sacarina y sucralosa, siendo estos edulcorantes hipoenergéticos los motivos por los que se tiene este comportamiento de consumo de alimento y ganancia en masa corporal pueden ser varios, de acuerdo con lo que explican los investigadores Fowler y colaboradores (2008). Estos pueden ser que, al estar ausentes de sacarosa, no provocan una sensación de saciedad y, como en el grupo control, tienen un aumento en la ingesta de alimento. Lo importante es que, a diferencia del grupo control, este alimento fue “mejor aprovechado” de acuerdo con el mecanismo propuesto por Mace y colaboradores (2007). Este hallazgo también debe ser estudiado con más profundidad en investigaciones futuras a la luz del cada vez mayor consumo de estos edulcorantes hipoenergéticos.

4.2. VOLUMEN DE AGUA INGERIDO

Para poder obtener el análisis de esta parte de la experimentación se va a recapitular toda la información de otras investigaciones ligadas a ésta. De acuerdo con la Figura 3.1 de la metodología, en la Tabla. 4.14 se muestran los contenidos de edulcorantes realmente presentes en las soluciones que bebían las ratas y que fueron determinados en el laboratorio por cromatografía de líquidos de alta resolución por Ortega-Gutiérrez (2010), de acuerdo con las preparaciones diarias de los edulcorantes en agua potable, realizadas en esta investigación.

Tabla 4.14. Tabla de preparación de soluciones (Ortega-Gutiérrez, 2010)

Nombre comercial	Edulcorante que contiene	Bebida	Contenido de la bebida	Concentración real promedio mg/L
Reactivo analítico AlyT	Fructosa	1	21 g de fructosa en 300 mL de agua (70000 mg L ⁻¹)	74 178.60
Reactivo analítico AlyT	Sacarosa	2	30g de sacarosa en 300 mL de agua (100000 mg L ⁻¹)	105 948.52
SWEET'N LOW	Sacarina	3	1 sobre* en 250 mL de agua (4000 mg L ⁻¹)	137.83
SUSSLY	Mezcla acesulfame-K y aspartame	4	1 sobre* en 250 mL de agua (4000 mg L ⁻¹)	41.19 40.12
EQUAL	Aspartame	5	1 sobre* en 250 mL de agua (4000 mg L ⁻¹)	140.73
Splenda	Sucralosa	6	1 sobre* en 250mL de agua (4000 mg L ⁻¹)	421.03
Reactivo analítico Fluka	Acesulfame-K	7	a) Solución concentrada: 15 g se añoran a 100 mL; b) Se toman 0.25 mL de la solución concentrada y se agregan a completar 250 mL de agua (150 mg L ⁻¹)	151.20

*El contenido del sobre indicado en la etiqueta es de 1g, incluyendo la glucosa adicionada para potenciar el sabor dulce

Dado que en esa investigación (Ortega-Gutiérrez, 2010) se corroboró si los sobrecitos comerciales de edulcorante realmente contenían lo que se señalaba en la etiqueta usando la cromatografía de líquidos de alta resolución para cuantificar las concentraciones reales, en esta investigación se modificaron las ingestas diarias de edulcorante por masa corporal de cada espécimen de acuerdo con lo que se tenía realmente en los bebederos (Anexo 4). En la Tabla 4.14a se mencionan los dos edulcorantes energéticos (sacarosa y fructosa), mostrando la cantidad de energía que aporta cada gramo y su potencial edulcorante, PE.

Tabla 4.14a. Tabla de fuentes naturales de edulcorantes, usos, energía (en kcal) y potencial edulcorante, PE

Edulcorante (Estructura química)	Fuentes naturales	Usos	kcalorías/ *PE
Sacarosa	Frutas Caña de azúcar Remolacha azucarera	Principalmente como azúcar de mesa, dulces, panadería, refrescos, etc.	4 kcal/g 1
Fructosa	Frutas Miel de abeja Almidones de maíz	Refrescos, bebidas de fruta, bebidas deportivas, productos horneados dulces o salados, caramelos, etc. Identificada en mezclas con glucosa como “azúcares” en las etiquetas	4 kcal/g 1.2-1.8

Se resume, en la Tabla 4.14b, la ingesta diaria admisible (IDA), que ayudará a conocer la cantidad de edulcorante ingerido en la solución para cada grupo durante el periodo de experimentación, así como las características reportadas en el capítulo 2.

Tabla 4.14b. Tabla de fuentes artificiales de edulcorantes, usos, energía (en kcal), potencial edulcorante, PE, e ingesta diaria admisible, IDA

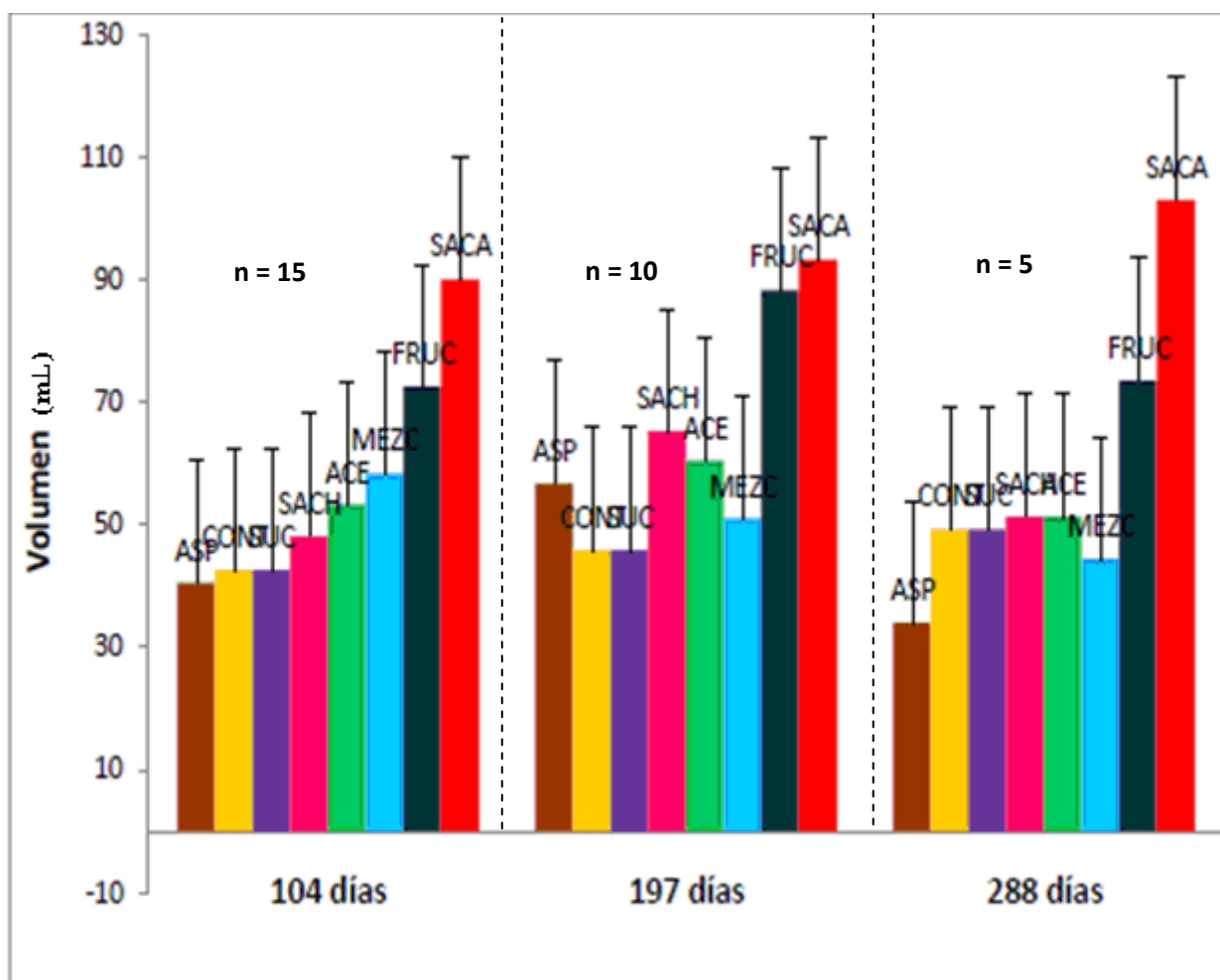
Edulcorante	Características	Usos	kcalorías/ PE/ IDA
Sacarina	Provoca un resabio amargo metálico. La forma que tiene mayor poder edulcorante es la sal de sodio. Soluble en agua, estable a valores de pH 2-9 y a tratamientos térmicos moderados	Sustituto de “azúcar de mesa”, en postres dietéticos, jugos en polvo, medicamentos, etc. Marca comercial Sweet & Low	0 300-500 5 mg kg⁻¹
Aspartame	Su dulzor tiene un resabio más lento y una duración más acentuada que el azúcar. Se realizan mezclas de aspartame con “acesulfame de potasio” para tener un sabor más parecido al sabor del azúcar y reducir costos. Poco soluble en agua, estable a valores de pH 3-5 y a tratamientos térmicos elevados pero que llevan corto tiempo	Bebidas, polvo para bebidas, yogurt, caramelos, productos de confitería, sustituto de “azúcar de mesa”, etc. Marcas comerciales “Equal” y “Canderel”	4 cal/g 180-220 40mg kg⁻¹
Acesulfame de potasio/ Aspartame	En general, no deja resabio desagradable, excepto en altas concentraciones. Es estable a temperaturas elevadas, muy hidrosoluble, estable a valores de pH 3-7	Debido a su estabilidad y solubilidad, es utilizado particularmente en bebidas y refrescos, productos horneados; comercialmente conocido como Sussly, Sunett, Sweet One	0 200 *27.5mg kg⁻¹
Sucralosa	Se obtiene a partir de la sacarosa. El sabor dulce de la sucralosa es muy semejante al de la sacarosa, sin resabio amargo y la intensidad del dulzor perdura por más tiempo. Muy hidrosoluble, estable a valores de pH 3-7 y elevadas temperaturas	Panadería, repostería, gelatinas, mermeladas, alimentos procesados, bebidas no alcohólicas, refrescos, sustituto de azúcar de mesa, etc. Comercializada con el nombre de Splenda	0 600 15 mg kg⁻¹
Acesulfame de potasio	Se obtiene a partir de la condensación de acetoacetamina. El sabor dulce es perceptible muy rápido. Sin resabios amargos, es sinérgico con otros edulcorantes y puede enmascarar sabores residuales de estos. Muy hidrosoluble, estable en un rango muy amplio de pH y elevadas temperaturas	Goma de mascar, productos en polvo, tabletas edulcorantes, caramelos, pastillas refrescantes, productos lácteos, bebidas alcohólicas y embotelladas	0 130 – 200 15 mg kg⁻¹

*No hay límite establecido en la literatura consultada. Considerando que la mezcla analizada tuvo 50% de cada uno (Ortega-Gutiérrez, 2010), el límite sería de 27.5 mg kg⁻¹

4.2.1. Ingesta diaria de edulcorante, IDE

4.2.2. Análisis estadístico de los tres bloques de experimentación: 104 días, 197 días, 288 días.

La Gráfica 4.12 muestra los consumos de las soluciones estudiadas, para una n=15 durante los primeros 104 días, una n=10 durante los 197 días y una n=5 durante los 288 días. Se puede ver que, de acuerdo con los volúmenes consumidos se tiene la mayor ingesta para los edulcorantes energéticos, estando en primer lugar el grupo de la sacarosa, seguido del de la fructosa. Para los edulcorantes hipoenérgicos el grupo que presenta la mayor ingesta es el de la sucralosa, seguido de los de la sacarina, acesulfame de potasio, aspartame y, finalmente, la mezcla de acesulfame de K y aspartame. Estos consumos probablemente respondan al sabor asociado a ellos.



Promedio de volumen de solución consumida diariamente

El análisis estadístico indica que, para los tres bloques de tiempo, no existe diferencia estadísticamente significativa para los edulcorantes hipoenérgicos. Con este análisis, además de conocer la preferencia por lo dulce, de acuerdo con el volumen diario ingerido, se ve si existe alguna diferencia significativa para la cantidad de edulcorante ingerida.

4.2.2.1. Análisis intergrupos: Primera etapa de 104 días

En la Gráfica 4.12 se encuentra el promedio de la solución ingerida, durante la primer etapa (104 días). Se aprecia que el grupo que presentó la mayor ingesta de edulcorante en solución fue el grupo de la sacarosa, seguido de los siguientes grupos: fructosa, mezcla de acesulfame de K y aspartame, acesulfame de K, sacarina, sucralosa, control y finalmente el grupo del aspartame.

Para evaluar si existe una diferencia estadísticamente significativa entre los datos se hizo un análisis estadístico por medio de un análisis de varianza (ANOVA, en inglés) (Tabla 4.15), considerando:

Ho = No hay diferencia en la cantidad diaria de edulcorante ingerido por las ratas en estudio, con el incremento de su masa corporal.

H₁: Sí hay diferencia en la cantidad diaria de edulcorante ingerido por las ratas en estudio, para al menos un edulcorante consumido.

Tabla 4.15. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del volumen consumido a los 104 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	10289.7	7	1469.96	25.21	0.0000
Intra grupos	1865.91	32	58.3098.		
Total	12155.6	39			

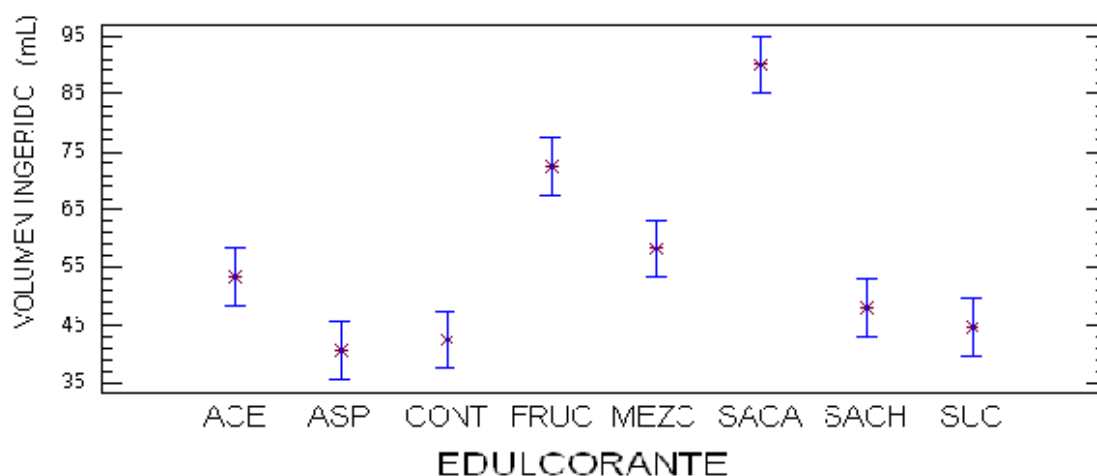
Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Para conocer los edulcorantes que presentaron una diferencia estadísticamente significativa, se utilizó el método de diferencias mínimas significativas (LSD por sus siglas en inglés) considerando la IDE (ingesta diaria experimental, en mg/kg mc). La Tabla 4.16 y la Gráfica 4.13 muestran que para el primer bloque de tiempo (104 días), existe diferencia estadísticamente significativa para los edulcorantes hipoenergéticos.

Tabla 4.16. Contraste múltiple de rango para el promedio de volumen de agua ingerido, en mL, durante 104 días según el tipo de edulcorante

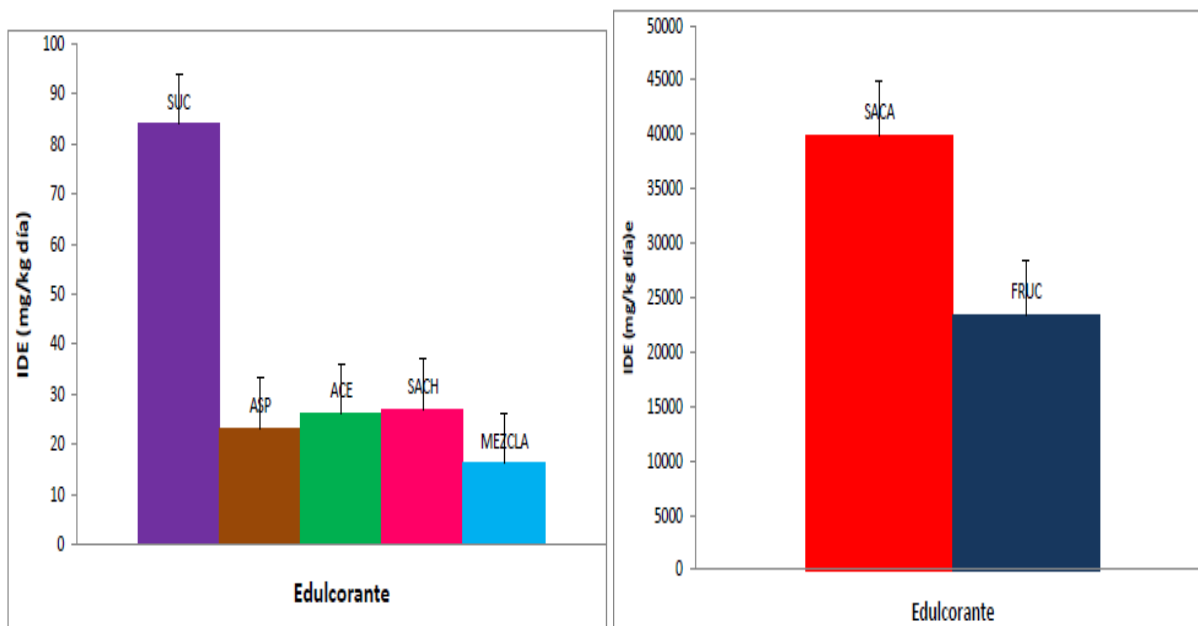
Método <i>LSD</i> usando 95%			
Edulcorante	Media ± DES	Contraste	Diferencia
ASP	40.5d ± 7.54	Ace – asp	*12.7
CONT	42.56d ± 4.42	Ace – cont	*10.64
		Ace – fruc	*-19.32
SUC	44.64d ± 11.98	Ace – saca	*-36.86
		Asp – fruc	*-32.02
SACH	48.1d ± 4.96	Asp – mezc	*-17.78
		Asp – saca	*-49.56
ACE	53.2c,d ± 5.72	Cont – fruc	*-29.96
		Cont – mezc	*-15.72
MEZC	58.28c ± 7.90	Cont – saca	47.5
		Fruc – mezc	*14.24
FRUC	72.52b ± 5.97	Fruc – saca	*-17.54
		Fruc – sach	*24.42
SACA	90.06a ± 9.52	Fruc – suc	*27.88
		Mezc – saca	*-31.78
		Mezc – sach	*10.18
		Mezc – suc	*13.64
		Saca – sach	*41.96
		Saca – suc	*45.42

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y el * indican una diferencia significativa)



Gráfica 4.13 Comparación entre medias del promedio de la solución consumida a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

La Gráfica 4.14 y la Tabla 4.17 muestran que sí hay diferencia estadísticamente significativa entre la media de la ID entre un nivel y otro entre los grupos de edulcorantes, puesto que tiene un valor menor que 0.05.



Gráfica 4.14. Promedio del edulcorante diario ingerido (n=5, 104 días)

Tabla 4.17. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la ID durante los primeros 104 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	7.81942E9	6	1.30324E9	89.33	0.0000
Intra grupos	4.08514E8	28	1.45898E7.		
Total	8.22793E9	34			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

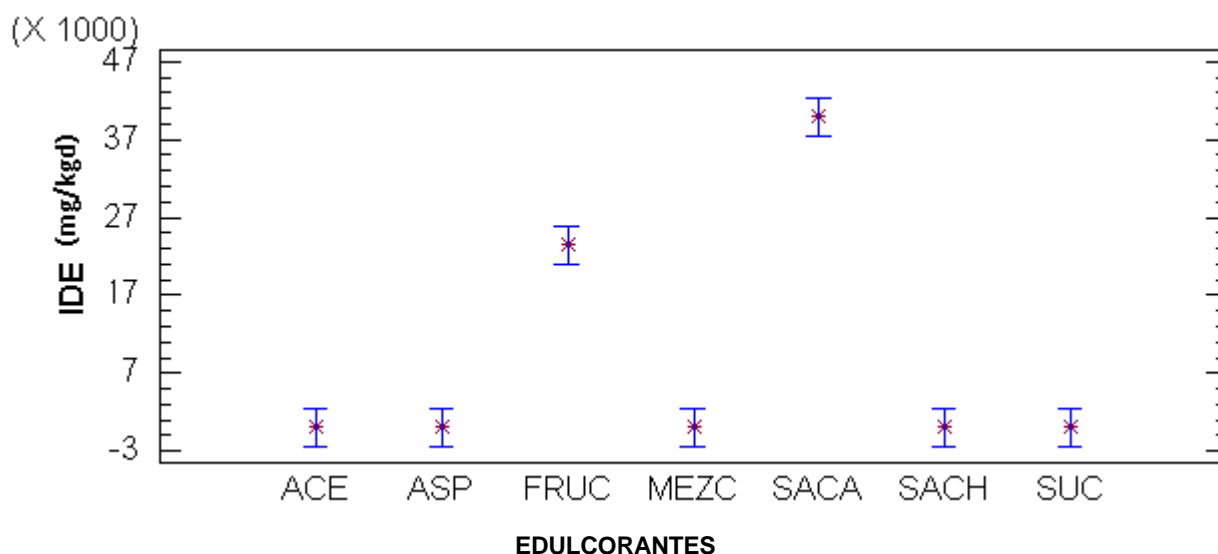
Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor media en términos de la ingesta diaria experimental, IDE, en mg/kg mc, se realizó de igual manera la comparación utilizando el procedimiento de diferencias mínimas significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$. Los resultados se presentan en la Tabla 4.18 y Gráfica 4.15.

Los grupos que presentaron una mínima diferencia significativa fueron los de los edulcorantes energéticos (sacarosa y fructosa), con respecto de los edulcorantes hipoenérgicos, así como entre ellos. No se mostró alguna diferencia mínima estadísticamente significativa entre los grupos de edulcorantes hipoenérgicos, con un consumo para los grupos de: sacarosa > fructosa > sucralosa > sacarina > acesulfame de K > aspartame > mezcla de acesulfame de K y aspartame.

Tabla 4.18. Contraste múltiple de rango para el promedio de ingesta diaria experimental, IDE, en mg/kg mc, durante 104 días, según el tipo de edulcorante

Método <i>LSD</i> usando 95%			
Edulcorante	Media ± DES	Contraste	Diferencia
MEZC	16.24a ± 3.03 (27.5)	Ace – fruc	*23404.6
ASP	23.2a ± 4.58 (40)	Ace – saca	*-39858.1
		Asp – fruc	*-23407.6
ACE	26.2a ± 9.79 (15)	Asp – saca	*-39861.1
		Fruc – mezc	*23414.6
SACH	27.06a ± 3.83 (5)	Fruc – saca	*-16453.5
		Fruc – sach	*23403.8
SUC	83.98a ± 19.52 (15)	Fruc – suc	*23346.8
		Mezc – saca	*-39868.1
FRUC	23430.8b ± 8956.98 (n.a.)	Saca – sach	*39857.2
		Saca – suc	*39800.3
SACA	39884.3c ± 4679.79 (n.a.)		

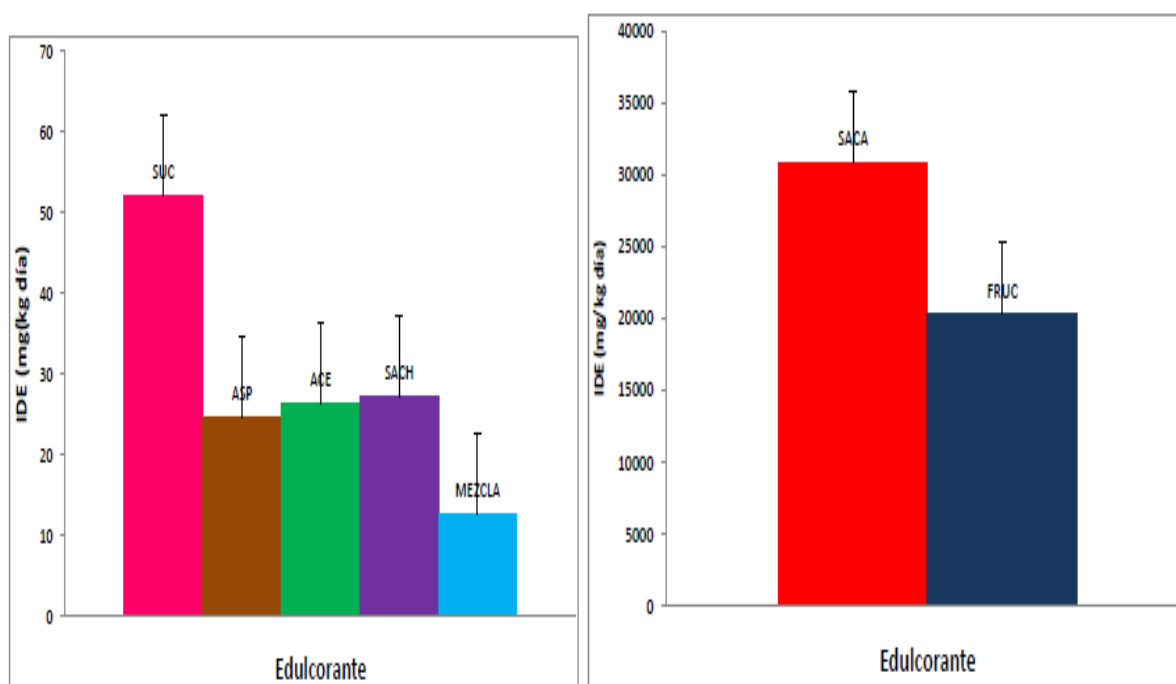
Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa. Los números en paréntesis son los valores máximos recomendados diariamente (Tabla 4.14b) y no aplicable (n.a.) para el caso de los edulcorante energéticos



Gráfica 4.15. Comparación entre medias del promedio de la ID a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.2.2.2. Análisis intergrupos: Segunda etapa de 197 días

En la Gráfica 4.16 se presentan los datos de los volúmenes de agua consumidos durante la segunda etapa de experimentación. El grupo que presentó la mayor ingesta de edulcorante en solución fue el grupo de la sacarosa, seguido de los siguientes grupos: fructosa, mezcla de acesulfame de K y aspartame, acesulfame de K, sacarina, sucralosa, control y, finalmente, aspartame.



Gráfica 4.16. Promedio de edulcorante diario ingerido, IDE (ingesta diaria experimental) (n=5, 198 días)

Nuevamente, para evaluar si existe diferencia estadísticamente significativa se realizó el análisis de varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) (Tabla 4.19).

Tabla 4.19. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del volumen durante los 197 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	12945.3	7	1849.32	8.95	0.0000
Intra grupos	6615.09	32	206.722		
Total	19560.4	39			

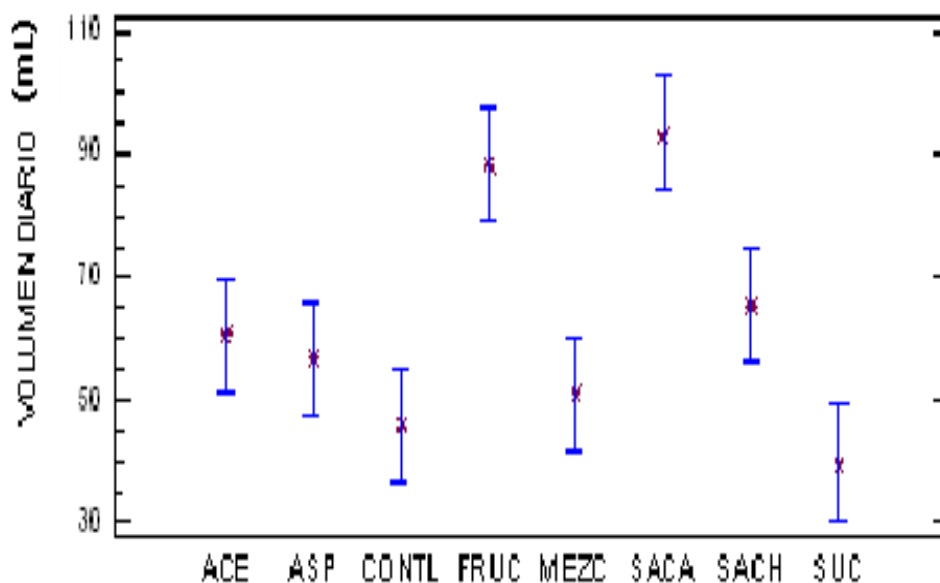
Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

De acuerdo con los datos que se muestran en la tabla anterior, el valor-P del coeficiente-F tiene un valor menor que 0.05, demostrando que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de volumen acumulado entre un dato y otro. Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de las diferencias mínimas significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$. Los resultados se presentan en la Tabla 4.20 y en la Gráfica 4.17.

Tabla 4.20. Contraste múltiple de rango para el promedio de la solución consumida, en mL, durante 197 días según el tipo de edulcorante

Edulcorante	Media ± DES	Contraste	Diferencia
SUC	39.6a ± 1.65	Ace – fruc	*-27.76
CONT	45.78ab ± 5.19	Ace – saca	*-32.76
		Ace – suc	*20.88
MEZC	50.96abc ± 15.50	Asp – fruc	*-31.48
		Asp – saca	*-36.48
ASP	56.76abc ± 26.55	Cont – fruc	*-42.46
		Cont – saca	*-47.46
ACE	60.48bc ± 12.18	Cont – sach	*-19.44
		Fruc – mezc	*37.28
SACH	65.22c ± 6.35	Fruc – sach	*23.02
		Fruc – suc	*48.64
FRUC	88.24d ± 9.62	Mezc – saca	*-42.28
		Saca – sach	*28.02
SACA	93.24e ± 19.92	Saca – suc	*53.64
		Sach - suc	*25.62

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa



Gráfica 4.17. Comparación entre medias del promedio de la solución consumida a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

En la Tabla 4.21 se puede apreciar que el valor-P es menor que 0.05, demostrando que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de IDE entre datos.

Tabla 4.21. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la ingesta diaria experimental, IDE, en mg/kg mc, durante el lapso de 197 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	4.92329E9	6	8.20548E8	111.80	0.0000
Intra grupos	2.05497E8	28	7.33917E6		
Total	5.12878E9	34			

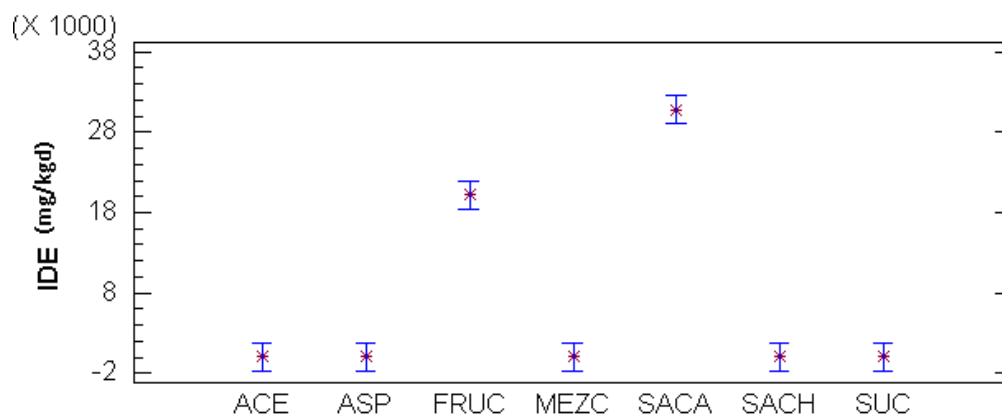
Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Nuevamente, para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se aplicó el procedimiento de diferencias mínimas significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$. Los resultados se presentan en la Tabla 4.22 y en la Gráfica 4.18. El grupo que tuvo mayor ingesta diaria es la sacarosa mientras que el de menor fue la mezcla de edulcorantes (acesulfame K y aspartame).

Tabla 4.22. Contraste múltiple de rango para el promedio de la ingesta diaria experimental, IDE, en mg/kg mc, durante 197 días según el tipo de edulcorante

Edulcorante	Media \pm DES	Contraste	Diferencia
MEZC	12.64a \pm 3.60 (27.5)	Ace – fruc	*-20209.1
ASP	24.6a \pm 9.66 (40)	Ace – saca	*-30788.8
ACE	26.38a \pm 5.18 (15)	Asp – fruc	*-20210.9
SACH	27.16a \pm 1.76 (5)	Asp - saca Fruc – mezc	*-30790.6 *20222.9
SUC	52.16a \pm 3.45 (15)	Fruc – saca Fruc – sach	*-10579.6 *20208.4
FRUC	20235.5b \pm 2902.1 (n.a.)	Fruc – suc Mezc – saca	*20183.4 *-30802.5
SACA	30815.2c \pm 6553.77 (n.a.)	Saca – sach Saca – suc	*30788.0 *30763.

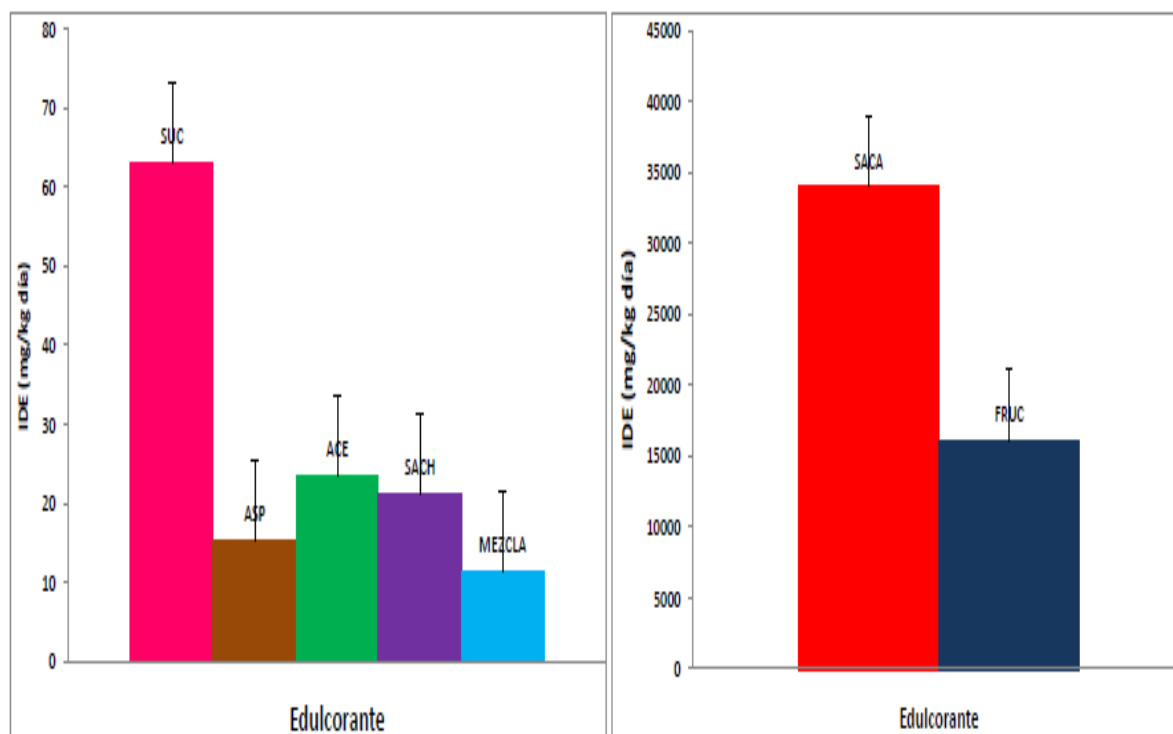
Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y el * indican una diferencia significativa. Los números en paréntesis son los valores máximos recomendados diariamente (Tabla 4.14b) y no aplicable (n.a.) para el caso de los edulcorante energéticos



Gráfica 4.18. Comparación entre medias del promedio de la ingesta diaria experimental, IDE, mg/kg mc, a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.2.2.3. Análisis intergrupos: Tercera etapa de 288 días

En la Gráfica 4.19 se observan los datos de los edulcorantes consumidos en solución durante la tercera etapa de experimentación, donde se aprecia que, en algunos grupos, hay un incremento del consumo y en otros una disminución con respecto a los otros bloques de experimentación. La sacarosa, al igual que la fructosa, tuvo el mismo consumo. El grupo de la mezcla aunque no es el último sí está dentro de los dos últimos en consumo.



Gráfica 4.19. Promedio del edulcorante diario ingerido (n=5, 288 días)

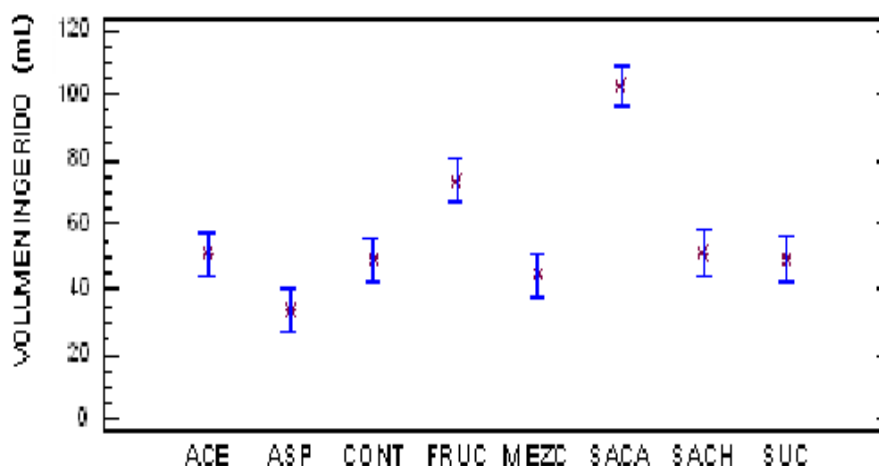
Para evaluar si existe una diferencia significativa entre los datos se hizo un análisis estadístico por medio de un análisis de varianza (ANOVA, en inglés) (Tabla 4.23).

Tabla 4.23. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio del volumen a los 288 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	16322.0	7	2331.71	22.44	0.0000
Intra grupos	3325.02	32	103.907		
Total	19647.0	39			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

En la Gráfica 4.20, el análisis de varianza demuestra que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media del volumen entre un nivel de tiempo y otro. Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó su comparación utilizando el procedimiento de diferencias mínimas significativas (LSD, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$. La Tabla 4.24 muestra los resultados. Para el tercer periodo de experimentación (288 días), el grupo que más solución consumió fue el de la sacarosa, seguido de los grupos de fructosa, sucralosa, acesulfame de potasio, sacarina, control, aspartame y mezcla de acesulfame de potasio y, finalmente, aspartame.



Gráfica 4.20. Comparación entre medias del promedio del volumen consumido, en mL, a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

La Tabla 4.25 demostró que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de ingesta diaria experimental, IDE, en mg/kg mc, de soluciones acuosas con edulcorantes.

Tabla 4.24. Contraste múltiple de rango para el promedio del volumen consumido, en mL, a los 288 días según el tipo de edulcorante

Edulcorante	Media ± DES	Contraste	Diferencia
ASP	33.88a ± 6.79	Ace – asp	*17.36
MEZC	44.36ab ± 7.59	Ace – fruc	*-22.26
		Ace – saca	*-51.78
CONT	49.32b ± 10.23	Asp – cont	*-15.44
		Asp – fruc	*-39.62
SUC	49.56b ± 10.93	Asp – saca	*-69.14
		Asp – sach	*-17.42
ACE	51.24b ± 13.03	Asp – suc	*-15.68
		Cont – fruc	*-24.18
SACH	51.3b ± 11.40	Cont – saca	*-53.7
		Fruc – mezc	*29.14
FRUC	73.5c ± 9.29	Fruc – saca	*-29.52
		Fruc – sach	*22.2
SACA	103.02d ± 10.80	Fruc – suc	*23.94
		Mezc – saca	*-58.66
		Saca – sach	*51.72
		Saca - suc	*53.46

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa

Tabla 4.25. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la IDE, en mg/kg mc, a los 288 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	5.27263E9	6	8.78772E8	345.82	0.0000
Intra grupos	7.11523E7	28	2.54115E6		
Total (Corr.)	5.34378E9	34			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

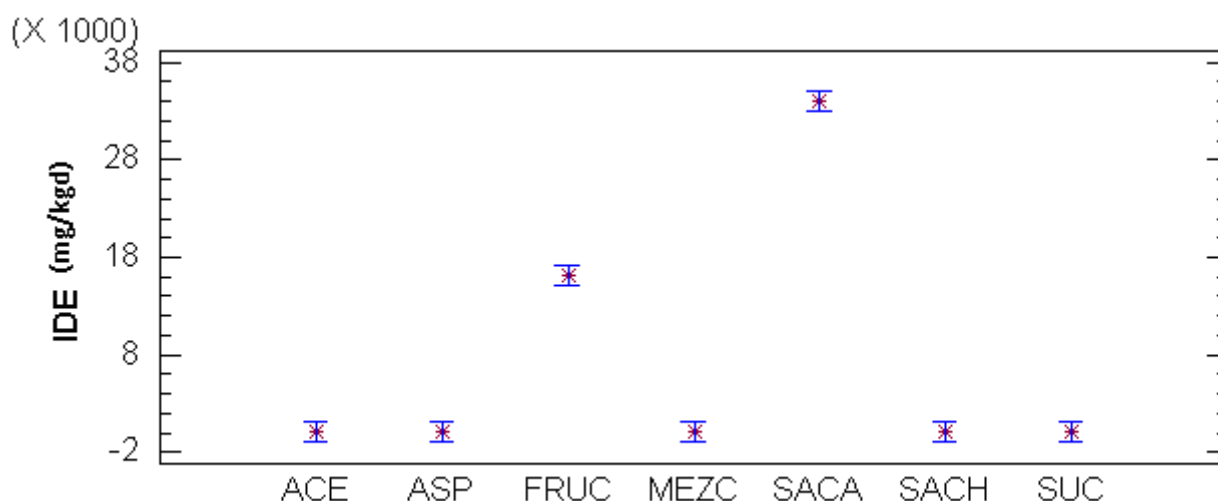
Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de diferencias mínimas significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$. En la Tabla 4.26 y en la Gráfica 4.21 puede verse que todos los grupos fueron estadísticamente diferentes.

Sería interesante corroborar si estos aumentos de consumos de edulcorantes (IDE) por parte de los especímenes en estudio se correlacionan con el incremento en masa corporal, especialmente en su etapa temprana que es cuando tienen el crecimiento exponencial. Para ello, se tomaron en cuenta las ingestas diarias admisibles, IDA, como se muestra a continuación.

Tabla 4.26. Contraste múltiple de rango para el promedio de la IDE, en mg/kg mc, a los 288 días según el tipo de edulcorante

Edulcorante	Media ± DES	Contraste	Diferencia
MEZC	11.36a ± 1.51 (27.5)	Ace – fruc	*-16069.8
		Ace – saca	*-33975.3
ASP	15.32a ± 2.19 (40)	Asp – fruc	*-16078.0
		Asp – saca	*-33983.4
SACH	21.18a ± 4.10 (5)	Fruc – mezc	*16081.9
		Fruc – saca	*-17905.4
ACE	23.46a ± 7.78 (15)	Fruc – sach	*16072.1
		Fruc – suc	*16030.1
SUC	63.16a ± 13.60 (15)	Mezc – saca	*-33987.4
		Saca – sach	*33977.5
FRUC	16093.3b ± 1130.18 (n.a.)	Saca – suc	*33935.6
SACA	33998.7c ± 4063.31 (n.a.)		

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa. Los números en paréntesis son los valores máximos recomendados diariamente (Tabla 4.14b) y no aplicable (n.a.) para el caso de los edulcorante energéticos



Gráfica 4.21. Comparación entre medias de la IDE a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.2.3. Comparación con la ingesta diaria admisible de edulcorantes, IDA, la ingesta diaria de edulcorante, IDE, y la ganancia en masa corporal

Respecto de los edulcorantes consumidos en solución durante la primera etapa de experimentación (104 días de investigación), puede apreciarse en algunos grupos un incremento del consumo y en otros una disminución. Esto es debido a que los animales modelo tienen un sentido del gusto más desarrollado en comparación con el humano, lo cual llega a provocar una saturación del gusto, tanto como para percibir los resabios que algunos de ellos presentan. Consecuentemente es probable que consumieran sólo el agua mínima necesaria de abastecimiento. Como no se hacían análisis diarios por cromatografía para saber cómo venían los sobres sino que se tomaban al azar, es difícil corroborar esto. Habría que tener el edulcorante a granel, perfectamente caracterizado para garantizar su homogeneidad en todo el experimento.

Para esta parte del estudio también se realizó un análisis estadístico para buscar si había diferencias estadísticamente significativas entre los grupos respecto del consumo de edulcorante de acuerdo con los valores de la ingesta diaria admisible, IDA, para los edulcorantes hipoenergéticos.

Comparando la Tabla 4.14b de IDA de la tesis de Ortega-Gutiérrez (2010), con los datos experimentales, Tabla 4.14, para el grupo del aspartame la ingesta no supera la IDA reportada de 40 mg/kg masa corporal (siendo menor en promedio de 25 mg/kg).

Para el grupo de acesulfame sí es mayor el consumo que la IDA por casi 26 mg/kg. Para la sacarina es uno de los grupos que supera la ingesta a lo permitido, ya que este último es de 5 mg/kg y lo que ingirió fue de 27 mg/kg de masa corporal.

Para el grupo de la sucralosa también se tiene una ingesta mayor, ya que lo permitido es de 15 mg/kg y lo ingerido es de aproximadamente 84mg/kg.

A continuación se correlacionan estas IDE con la ganancia en masa corporal promedio para la primera etapa: Mezcla (388.18 g mc/16.24 mg/kg mc) > fructosa (375.88 g mc) > sacarina (364.24 g mc/27 mg/kg mc) > control (361.84 g mc) > aspartame (346.84 g mc/25 mg/kg mc) > acesulfame de potasio (323.58 g mc/26 mg/kg mc) > sacarosa (315.9 g mc) > sucralosa (313.44 g mc/84 mg/kg mc). Puede verse que, aparentemente, no hay correlación entre la IDE y la ganancia en masa corporal en esta primera etapa. Es otro hallazgo que deberá estudiarse.

Para los grupos energéticos (sacarosa y fructosa), estos son consumidos en grandes cantidades. Pero, siendo naturales, no se ha encontrado en la bibliografía alguna referencia que indique una ingesta recomendable o algún límite permitido, por lo que no existe algún parámetro para su comparación.

Durante la segunda etapa de experimentación que son 197 días de investigación, comparando la Tabla 4.23 del promedio de IDE y la Tabla 4.14b de IDA de la tesis de Ortega – Gutierrez (2010), para el grupo del aspartame la ingesta no supera la IDA reportada (siendo menor por 15 unidades), para el grupo de acesulfame éste supera la IDA por casi 11 unidades, para la sacarina es uno de los grupos que supera por mucho la ingesta ya que lo permitido es de 5 mg y lo que ingirió fue de 22 mg, para el grupo de la sucralosa también supera la ingesta admisible ya que lo permitido es de 15 mg y lo ingerido es de aproximadamente 37 mg/kg mc.

Realizando la misma comparación queda lo siguiente: Aspartame (487.94 g mc/24.6 mg/kg mc) > sacarina (471.14 g mc/27.16 mg/kg mc) > mezcla (458.96 g mc/12.64 mg/kg mc) > sucralosa (454.76 g mc/52.16 mg/kg mc) > acesulfame de potasio (451.94 g mc/26.38 mg/kg mc) > sacarosa (449.6 g mc) > fructosa (440.3 g mc) > control (436.58 g mc). Puede verse, nuevamente, que no hay correlación entre la IDE y la ganancia en masa corporal en esta segunda etapa.

Comparando la Tabla 4.17 del promedio de IDE de los 288 días de experimentación y la Tabla de IDA de la tesis de Ortega-Gutiérrez (2010), para el grupo del aspartame la ingesta no supera la IDA reportada (siendo menor por 25 unidades), para el grupo de acesulfame de potasio éste supera la IDA por casi 8 unidades, para la sacarina es uno de los grupos que supera por mucho la ingesta ya que lo permitido es de 5 mg y lo que se ingirió fue de 21 mg, para el grupo de la sucralosa también supera la ingesta admisible ya que lo permitido es de 15 mg y lo ingerido es de aproximadamente 63 mg/kg mc.

Su comparación con la masa corporal es la siguiente: Acesulfame de potasio (426.92 g mc/23.46 mg/kg mc) > sucralosa (424.4 g mc/63.16 mg/kg mc) > sacarina (424.28 g mc/21.18 mg/kg mc) > fructosa (417.12 g mc) > mezcla (416.56 g mc/11.36 mg/kg mc) > control (408.22 g mc) > aspartame (390.44 g mc/15.32 mg/kg mc) > sacarosa (377.8 g mc). Puede verse, nuevamente, que no hay correlación entre la IDE y la ganancia en masa corporal en esta tercera etapa.

Algo que habría que mencionar es la tendencia que ya se observaba en el experimento anterior (Martínez y col., 2010), sobre el aumento en el consumo de la sucralosa por parte de los especímenes y que se corroboró en este experimento a largo plazo. No se ve, sin embargo, que se refleje en un aumento perceptible de la masa corporal de los animales modelo comparados con los otros edulcorantes hipocalóricos (último lugar en la primera etapa con 84 mg/kg mc, cuarto lugar en la segunda etapa con 52.16 mg/kg mc y segundo lugar en la tercera etapa con 63.16 mg/kg mc).

Con este análisis estadístico se ve que durante todo el experimento el grupo que más solución consumió fue el de la SACAROSA. Esto puede deberse al sabor agradable de la misma, además de que es una de las fuentes de aporte energético. Seguido de este grupo se encuentra en segundo lugar la FRUCTOSA, con una cantidad un poco menor que la sacarosa pero mucho mayor que los demás grupos. Como puede observarse, las soluciones con un mayor grado de ingestión son estas las de los edulcorantes conocidos como energéticos ya que estos aportan energía al ser consumidos. Los grupos que consumen solución en mucha menor cantidad son todos los demás, endulzadas con edulcorantes conocidos como hipoenérgicos ya que estos no aportan energía al ser consumidos. En forma intermedia se encuentra el grupo control.

Para los edulcorantes energéticos en los que, para el grupo de la sacarosa se aportan 4 kcal/g con un tiempo de 288 días de experimentación y es el que consume la mayor cantidad de edulcorante (> 30 g/kg día), lo interesante es que el grupo que presenta la menor masa corporal, estando incluso por debajo de los valores del grupo control, que consumía agua potable sin aditivos (Tabla 4.19).

El grupo de la fructosa, con un aporte energético de 3.75 kcal/g, es el segundo cuya ingesta de edulcorante es de > 16 g/kg día. Es el grupo con la mayor masa corporal durante el primer bloque de tiempo. Para los siguientes bloques de tiempo no presenta la mayor masa corporal, pero sí se encuentra en los más altos.

A continuación, se presenta justamente el balance energético de las dietas y las soluciones edulcorantes consumidas por los especímenes en estudio.

4.3. Balance energético (Consumo energético)

En la Gráfica 4.22 se encuentran los valores del balance energético de los tres bloques de experimentación. Para los edulcorantes hipoenérgicos solamente se consideraron los valores del aporte del alimento ingerido, 3.75 kcal/g de alimento (Harlan, 2004, 2009), como ya se mencionó en la metodología.

Para los edulcorantes enérgicos se realizó la suma del aporte energético del alimento ingerido (3.75 kcal/g) con el correspondiente a la fructosa (3.75 kcal/g) y la sacarosa (4 kcal/g).

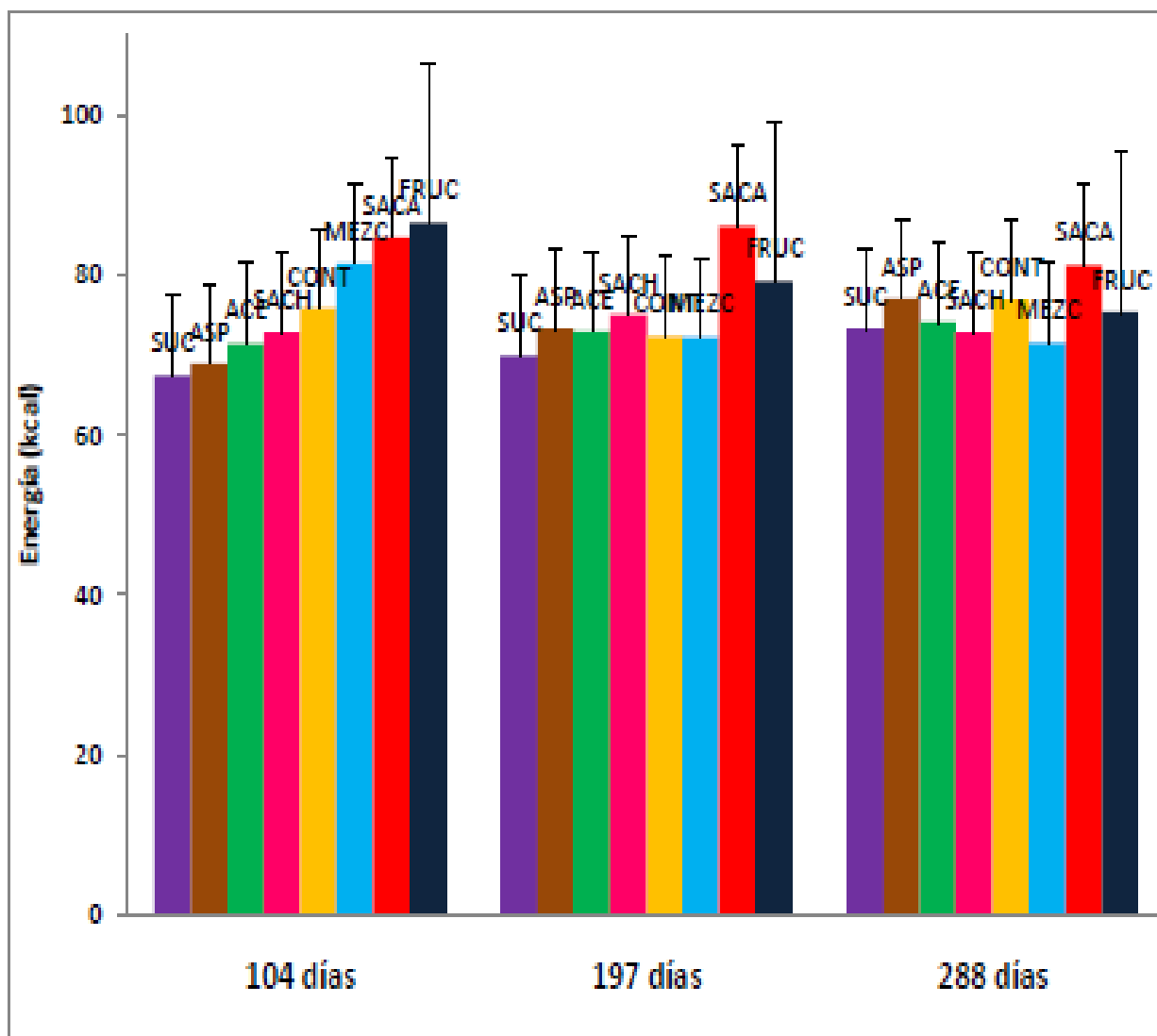
Para el primer bloque de experimentación el grupo que presenta el mayor consumo energético es el de la fructosa. El grupo que presenta el menor consumo energético es el de la sucralosa.

Para el segundo bloque de experimentación el grupo que presenta el mayor consumo energético es el de la sacarosa. El grupo que presenta el menor consumo energético es el grupo de la sucralosa.

Para el tercer bloque de experimentación, el grupo que presenta el mayor consumo energético es el de la sacarosa y el más bajo el de sucralosa. El aporte energético de los animales modelo (ratas), se encuentran entre las 85 y 68 kcal por día siendo mayor, en general, para los grupos de los edulcorantes enérgicos (fructosa y sacarosa).

Esto indica que existe algún factor adicional que está influyendo en el incremento en la masa corporal independientemente de su ingesta energética. El artículo de Mace y colaboradores (2007), parece ser la respuesta del efecto de los edulcorantes hipoenérgicos a las variaciones en la masa corporal de los especímenes en estudio.

Para el caso de la fructosa, un edulcorante que está siendo estudiado muy profusamente como resultado de la epidemia de síndrome metabólico en los países donde se consumen las mieles fructosadas en muchos productos procesados (alimentos y bebidas) desde la década de los años 60 del siglo XX cuando se inició el bloqueo a Cuba y se redujo el consumo de azúcar y del que existen numerosos estudios en la literatura, es claro que promueve la ganancia en masa corporal, como era esperado.



Promedio de la energía ingerida (n=5, para cada lapso)

4.3.1. Análisis estadístico de los tres bloques de experimentación: 104 días, 197 días, 288 días

4.3.1.1. Análisis intergrupos: Primera etapa de 104 días

En la Gráfica 4.22 se presentan los datos de la energía consumida por los grupos de edulcorantes durante la primera etapa de experimentación (104 días de investigación) medida como kilocalorías, donde se aprecia que en algunos grupos hay un incremento de la energía consumida como los edulcorantes energéticos y en otros una disminución como los edulcorantes hipoenergéticos. El grupo que presentó la mayor ingesta de energía, medida como kilocalorías, fueron los grupos de fructosa, sacarosa, la mezcla de acesulfame de K y aspartame, control, sacarina, acesulfame de K, aspartame y, finalmente, el grupo de la sucralosa,

Para poder ver si existe una diferencia estadísticamente significativa se realizó un análisis estadístico por medio de una ANOVA, el cual indica si demuestra que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de energía consumida total medida como kilocalorías entre un nivel de edulcorante y otro (Tabla 4.27).

Tabla 4.27. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la energía consumida medida como kilocalorías, a los 104 días, según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	1860.99	7	265.856	4.80	0.0009
Intra grupos	1773.63	32	55.4259		
Total	3634.62	39			

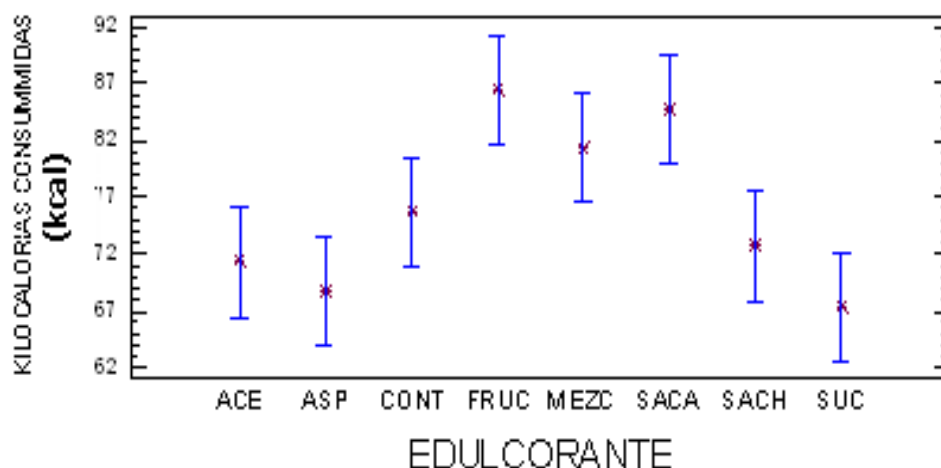
Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

La Tabla 4.28 y Gráfica 4.23 indican la comparación entre grupos utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados.

Tabla 4.28. Contraste múltiple de rango para el promedio de energía consumida medida como kilocalorías por día a los 104 días según el tipo de edulcorante

Método <i>LSD</i> usando 95%			
EDULCORANTE	Media \pm DES	Contraste	Diferencia
SUC	67.38a \pm 11.01	Ace – fruc	*-15.06
ASP	68.76a \pm 5.62	Ace – mezc	*-10.0
ACE	71.38a \pm 4.68	Ace – saca	*-13.32
SACH	72.76ab \pm 9.49	Asp – fruc	*-17.68
		Asp – mezc	*-12.62
CONT	75.78abc \pm 7.37	Asp – saca	*-15.94
		Cont – fruc	*-10.66
MEZC	81.38bcd \pm 6.90	Fruc – sach	*13.68
		Fruc – suc	*19.06
SACA	84.7cd \pm 5.15	Mezc – suc	*14.0
		Saca – sach	*11.94
FRUC	86.44d \pm 7.04	Saca – suc	*17.32

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa



Gráfica 4.23 Comparación entre medias del promedio de la energía consumida en kilocalorías por día a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.3.1.2. Análisis intergrupos: Segunda etapa 197 días

En la Gráfica 4.22 se presentan los datos de la energía consumida, medida en kilocalorías, por los grupos de edulcorantes durante la segunda etapa de experimentación que son 197 días, donde en algunos grupos hay un incremento, como los de los edulcorantes energéticos (sacarosa) y otros una disminución como los de los edulcorantes hipoenergéticos.

El orden de los grupos que presentaron la mayor ingesta energética medida como kilocalorías por día fue: Sacarosa > fructosa > sacarina > aspartame > acesulfame de K > control > la mezcla de acesulfame de K y aspartame y, finalmente, el grupo de la sucralosa. Para ver si hay o existe una diferencia estadísticamente significativa se realizó un análisis estadístico por medio de un análisis de varianza (ANOVA, en inglés), donde se observa que sí hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los valores de energía consumida medidos como kilocalorías entre un nivel de edulcorante y otro para los diferentes edulcorantes (Tabla 4.29).

Tabla 4.29. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la energía consumida a los 197 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	949.674	7	135.668	5.72	0.0002
Intra grupos	759.284	32	23.7276		
Total	1708.96	39			

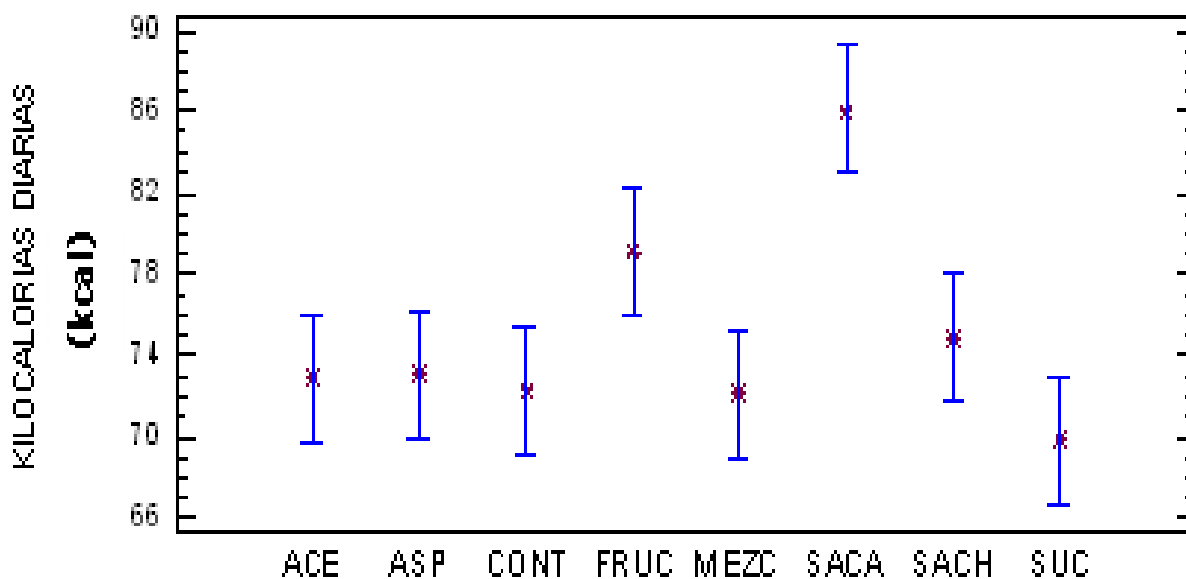
Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (LSD, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados se presentan en la Tabla 4.30 y Gráfica 4.24.

Tabla 4.30. Contraste múltiple de rango para el promedio de la energía consumida medida en kilocalorías por día los 197 días según el tipo de edulcorante

Método LSD usando 95%			
EDULCORANTES	Media ± DES	Contraste	Diferencia
SUC	69.8 a ± 3.42	Ace - saca	*-13.2
MEZC	72.16a ± 2.72	Asp - saca	*-12.96
CONT	72.28a ± 3.22	cont - fruc	*-6.8
ACE	72.88ab ± 4.57	Cont - saca	*-13.8
ASP	73.12ab ± 6.85	Fruc - mezc	*6.92
SACH	74.94ab ± 5.51	Fruc - saca	*-7.0
FRUC	79.08b ± 3.35	Fruc - suc	*9.28
SACA	86.08c ± 7.11	Mezc - saca	*-13.92
		Saca - sach	*11.14
		Saca - suc	*16.28

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa



Gráfica 4.24. Comparación entre medias del promedio de la energía consumida medida en kilocalorías por día a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.3.1.3. Análisis intergrupos: Tercera etapa 288 días

En la Gráfica 4.22 se presentan los datos de la energía consumida medida en kilocalorías por día para los grupos de edulcorantes durante la tercer etapa de experimentación (288 días), donde se puede apreciar que en algunos grupos hay un incremento de las kilocalorías consumidas como los edulcorantes energéticos (sacarosa) y otros una disminución como los edulcorantes hipoenergéticos.

El orden de los grupos fue: Sacarosa, aspartame, control, fructosa, acesulfame de K, sucralosa, sacarina y, finalmente, la mezcla de acesulfame de K y aspartame. Nuevamente, se realizó el análisis estadístico por medio de un análisis de varianza (ANOVA, en inglés), el cual indicó que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la energía consumida total entre un nivel de tiempo y otro para los diferentes edulcorantes. Estos resultados se presentan en la Tabla 4.31.

Tabla 4.31. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el consumo de energía promedio medido como kilocalorías a los 288 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	335.994	7	47.9991	0.97	0.4690
Intra grupos	1582.54	32	49.4544		
Total	1918.53	39			

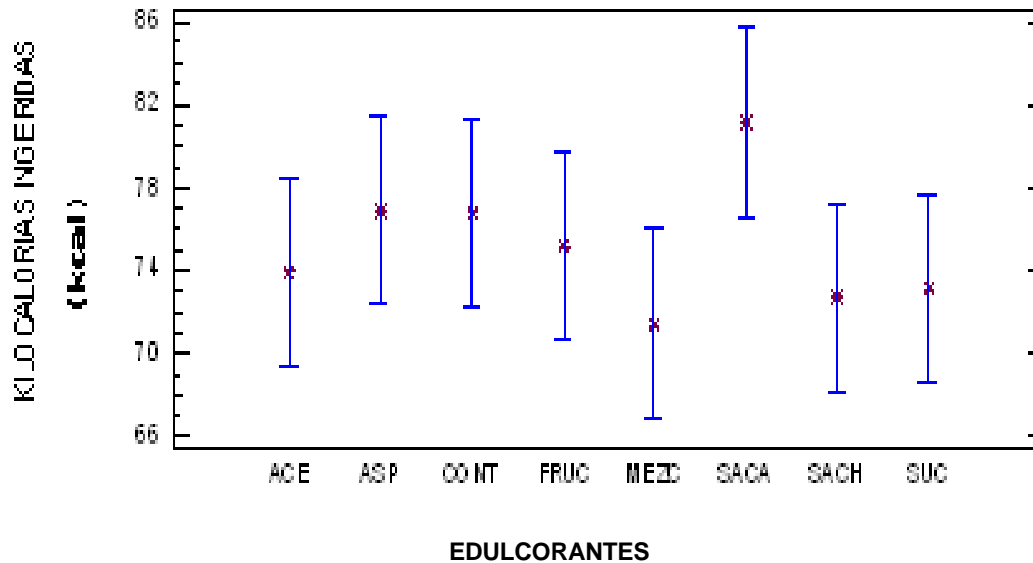
Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor media se realizó una comparación de medias utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (LSD, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados se presentan en la Tabla 4.32 y Gráfica 4.25.

Tabla 4.32. Contraste múltiple de rango para el promedio de la energía consumida medida en kilocalorías a los 288 días según el tipo de edulcorante

Método LSD usando 95%			
EDULCORANTES	Media \pm DES	Contraste	Diferencia
MEZC	71.42a \pm 9.34	Mezc – saca	*-9.74
SACA	72.74ab \pm 5.52		
SUC	73.1ab \pm 3.29		
ACE	73.98ab \pm 6.044		
FRUC	75.2ab \pm 6.92		
CONT	76.8ab \pm 4.07		
ASP	76.9ab \pm 12.14		
SACA	81.16b \pm 5.52		

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa



Gráfica 4.25. Comparación entre medias del promedio de energía consumida medida como kilocalorías por día a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.4. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

Es importante realizar el estudio detallado de este tipo de parámetros bioquímicos para poder conocer si el uso prolongado de este tipo de edulcorantes, tanto los energéticos como los hipoenérgicos, puede llevar a modificar sus valores, con la mira de evitar alguna enfermedad de tipo crónico-degenerativa.

A continuación se muestran los datos recabados de las determinaciones de las concentraciones de colesterol, triglicéridos, glucosa e insulina en el suero sanguíneo.

En esta parte del análisis se realizó el estudio intragrupos e intergrupos para saber qué edulcorante puede incrementar o propiciar un incremento en los valores de estos parámetros bioquímicos, especialmente a la luz de las posibles enfermedades que pueden causarse: Hipercolesterolemia (altas concentraciones de colesterol), hiperlipidemia (alta concentración de triglicéridos), hiperglucemia (altas concentraciones de glucosa) e hiperinsulinemia (resistencia a la insulina), tanto en cada trimestre de experimentación, como en forma individual para cada uno de los edulcorantes en estudio.

4.4.1. COLESTEROL

En la Tabla 4.33 se encuentran los valores de colesterol. Para el primer tercio de la experimentación (104 días) el edulcorante que presentó un mayor aumento del colesterol en los especímenes del grupo fue la mezcla de acesulfame de K y aspartame y, por el contrario, el grupo que presentó el nivel más bajo fue el de la sacarosa.

Para el segundo tercio (197 días) el grupo que presentó el nivel más alto fue el de la fructosa, y el grupo que tuvo el nivel más bajo fue el grupo control. Para el último tercio (288 días), el grupo que presentó un mayor incremento fue el de la fructosa y el de los valores más bajos fue el de la sacarina.

Tabla 4.33. Promedios de la concentración de colesterol para cada lapso de experimentación (< 200 – 240 mg/dL)

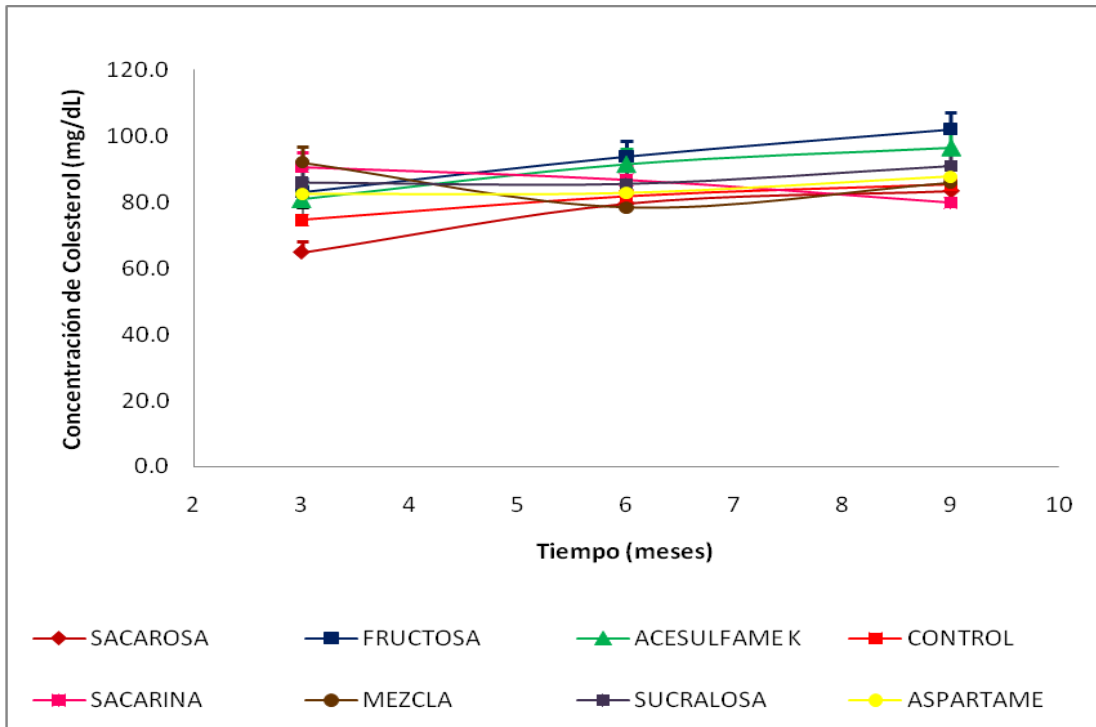
EDULCORANTE	Promedio ± DE (n = 5) 104 días	Promedio ± DE (n = 5) 197 días	Promedio ± DE (n = 5) 288 días
ACESULFAME DE K	80.91 ± 9.38 ^{ab}	91.60 ± 8.64 ^{bc}	96.61 ± 10.50 ^{ab}
CONTROL	74.59 ± 4.98 ^{ab}	56.70 ± 3.38^a	86.59 ± 16.09 ^{ab}
FRUCTOSA	83.12 ± 26.16 ^{ab}	101.89 ± 17.27^c	101.99 ± 8.44^b
MEZCLA DE EDULCORANTES	92.06 ± 23.19^b	78.42 ± 17.59 ^b	85.92 ± 16.06 ^{ab}
SACAROSA	64.79 ± 7.80^a	79.68 ± 11.18 ^b	83.48 ± 12.38 ^a
SACARINA	90.63 ± 18.84 ^b	86.77 ± 22.10 ^{bc}	79.82 ± 11.53^a
SUCRALOSA	84.52 ± 15.99 ^b	85.66 ± 9.74 ^{bc}	91.04 ± 22.87 ^{ab}

DES = Desviación estándar, n = número de especímenes

Nota: Las letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

Como se aprecia para esta determinación los niveles altos y bajos varían entre grupos, a excepción del grupo de la fructosa que fue el que presentó el valor más alto significativamente durante los 197 y 288 días. Aunque se destacan con colores diferentes, los valores más altos y más bajos, debe mencionarse que ningún grupo excedió los valores máximos permisibles para estos animales modelo, que son de **< 200 – 240 mg/dL**.

En la Gráfica 4.26 se aprecian los valores de la concentración del colesterol en suero sanguíneo. Es claro que, conforme se llega al siguiente tercio de la experimentación, estas concentraciones se incrementan, pero sin llegar al límite máximo permisible que podría ocasionar enfermedades crónicas degenerativas.



Gráfica 4.26. Promedio de la concentración de colesterol (288 días)

4.4.1.1 Análisis estadístico de los tres bloques de experimentación: 104 días, 197 días, 288 días

Para evaluar si existe una diferencia estadísticamente significativa entre los datos se hizo un análisis estadístico por medio de un análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés) (Tabla 4.34), considerando:

H_0 = No hay diferencia entre la media de la concentración de colesterol entre el consumo de edulcorante.

H_1 : Sí hay diferencia la media de la concentración de colesterol entre el consumo de edulcorante.

4.4.1.2. Análisis intergrupos: Primera etapa de 104 días

La Gráfica 4.27 demuestra que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de colesterol entre un nivel de edulcorante y otro. Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor media se realizó una comparación de medias utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$.

Tabla 4.34 Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de colesterol durante los 104 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	2674.2	7	382.028	1.30	0.2812
Intra grupos	9390.28	32	293.446		
Total	12064.5	39			

Donde: *FV*= Fuente de variabilidad, *SC*=Suma de cuadrados, *g.l.*=grados de libertad, *CM*=Cuadrado medio, *F*=estadístico de prueba y valor- *P*=significancia observada

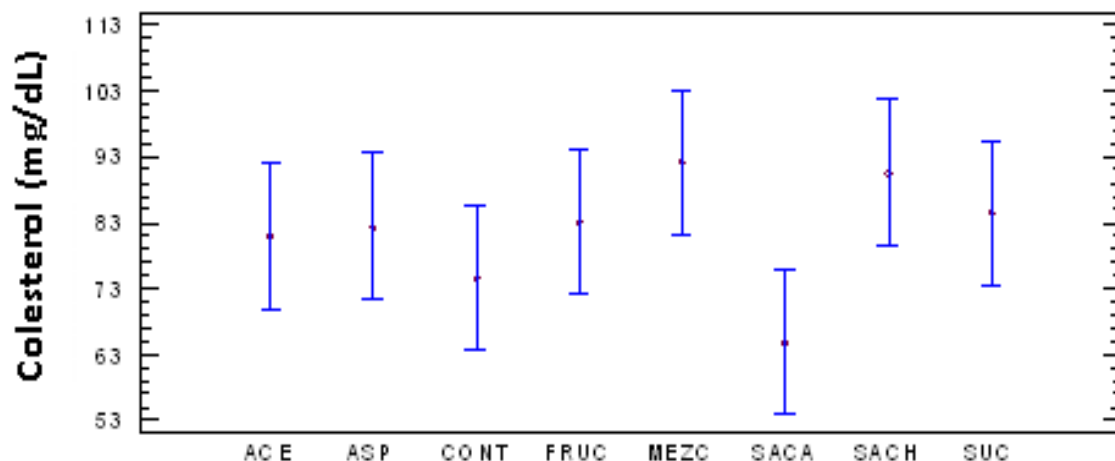
La Tabla 4.35 muestra que solamente existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de mezcla de acesulfame de K y aspartame, sacarosa y sacarina.

Tabla 4.35. Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de colesterol a los 104 días según el tipo de edulcorante

Método <i>LSD</i> usando 95%			
EDULCORANTE	Media	Contraste	Diferencia
SACA	64.786a	Mezc- saca	27.274*
CONT	74.594ab		
ACE	80.912ab		
ASP	82.434ab		
FRUC	83.12ab	Saca - sach	-25.848*
SUC	84.524ab		
SACH	90.634b		
MEZC	92.06b		

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y el * indican una diferencia significativa

Se observa en forma decreciente la concentración de colesterol de los grupos que son: mezcla de acesulfame de K y aspartame > sacarina > sucralosa > fructosa > aspartame > acesulfame de K > control > sacarosa. Pero, como anteriormente se mencionó, ningún grupo sobrepasa el límite máximo permitido que es < 200mg/dL.



Edulcorantes

Gráfica 4.27. Comparación entre medias del promedio del colesterol a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.4.1.3. Análisis intergrupos: Segunda etapa de 197 días

En la Tabla 4.36 se muestra el Valor-P, que es menor que 0.05, demostrando que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de colesterol entre un nivel de edulcorante y otro. Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés).

Tabla 4.36. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de colesterol a los 197 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	5883.54	7	840.506	3.51	0.0066
Intra grupos	7664.58	32	239.518		
Total	13548.1	39			

Donde: *FV*= Fuente de variabilidad, *SC*=Suma de cuadrados, *g.l.*=grados de libertad, *CM*=Cuadrado medio, *F*=estadístico de prueba y valor- *P*=significancia observada

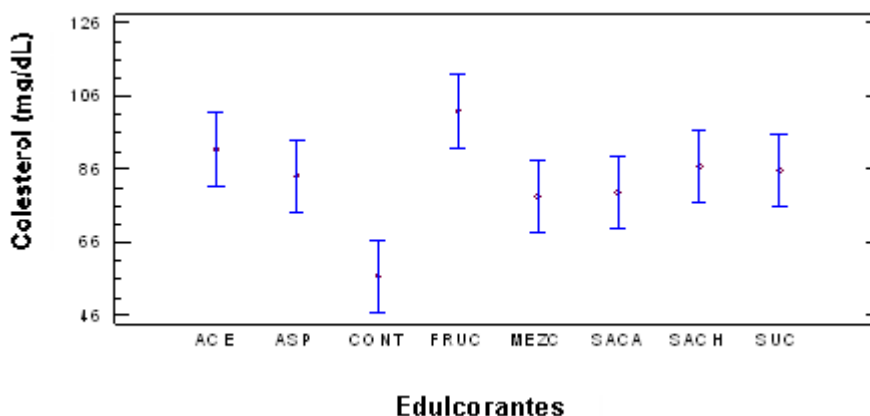
En la Tabla 4.37 los grupos que presentaron diferencias estadísticamente significativas son los grupos de: Acesulfame de K – control, aspartame – control, control – fructosa, control – mezcla de acesulfame de K y aspartame, control – sacarosa, control – sacarina, control – sucralosa, fructosa – mezcla de acesulfame de K, fructosa – sacarosa, y se observa en forma decreciente la concentración de colesterol de los siguientes grupos: fructosa > acesulfame de K > sacarina > sucralosa > aspartame > sacarosa > mezcla de acesulfame de K y aspartame > control.

Como ya se ha mencionado con anterioridad ningún grupo de estudio supera el límite máximo permisible para que ocasione alguna enfermedad, pero sí puede observarse que en el segundo periodo de experimentación el grupo que presenta la mayor concentración de colesterol fue el grupo de la fructosa y que el grupo control está por debajo de todos (Gráfica 4.28).

Tabla 4.37. Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de colesterol a los 197 días según el tipo de edulcorante

Método <i>LSD</i> usando 95%			
EDULCORANTE	Media	Contraste	Diferencia
CONT	56.7a	Ace - cont	*34.896
		Asp - cont	*27.358
MEZC	78.416b	Cont - fruc	*-45.188
SACA	79.682b	Cont - mezc	*-21.716
ASP	84.058bc	Cont - saca	*-22.982
SUC	85.66bc	Cont - sach	*-30.072
SACA	86.772bc	Cont - suc	*-28.96
ACE	91.596bc	Fruc - mezc	*23.472
FRUC	101.888c	Fruc - saca	*22.206

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa



Gráfica 4.28. Comparación entre medias del promedio del colesterol a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.4.1.4. Análisis intergrupos: Tercer etapa de 288 días

En la Gráfica 4.29 y la Tabla 4.38, el Valor-P del Coeficiente-F es mayor que 0.05, demuestra que NO existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de colesterol entre un nivel de edulcorante y otro. Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor media se realizó una comparación de medias utilizando el

procedimiento de mínimas diferencias significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$.

Tabla 4.38. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de colesterol a los 288 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	1811.81	7	258.829	1.26	0.3024
Intra grupos	6589.7	32	205.928		
Total	8401.51	39			

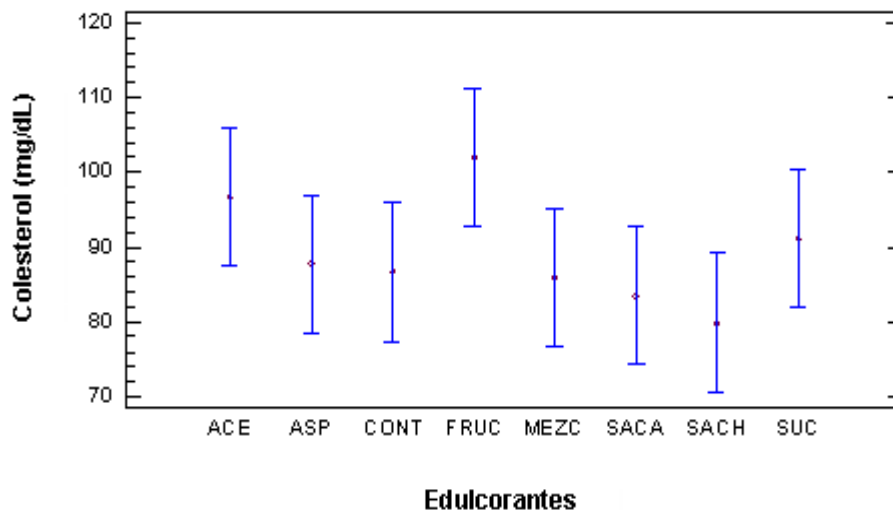
Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

En la Tabla 4.39 se puede observar que los grupos que presentaron diferencias estadísticamente significativas son: Fructosa – sacarosa, fructosa – sacarina. Se puede observar de forma decreciente los grupos de experimentación la concentración de colesterol: Fructosa > acesulfame de K > sucralosa > aspartame > control > mezcla de acesulfame de K y aspartame > sacarosa > sacarina.

Tabla 4.39. Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de colesterol durante 288 días según el tipo de edulcorante.

Método LSD usando 95%			
EDULCORANTE	Media	Contraste	Diferencia
SACH	79.824a	Fruc - saca	*18.516
SACA	83.478a		
MEZC	85.92ab		
CONT	86.59ab		
ASP	87.728ab		
SUC	91.036ab	Fruc - sach	*22.17
ACE	96.612ab		
FRUC	101.994b		

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa



Gráfica 4.29. Comparación entre medias del promedio del colesterol a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

Los datos obtenidos, de acuerdo con el análisis estadístico, tienen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de mezcla de acesulfame de K y aspartame y sacarina con la sacarosa, para el primer lapso. Para el segundo lapso, las diferencias son entre los grupos de la sacarosa y control y entre los grupos de la sacarosa y la fructosa. En el último lapso, los grupos diferentes son el de la sacarosa y el de la fructosa. Aunque ninguno excede los límites, resulta interesante ver que los resultados del grupo de la sacarosa siempre son menores que los del grupo de la fructosa, confirmando que hay una diferencia en metabolismo para ambos edulcorantes energéticos. En la literatura se han encontrado estudios sobre la diferencia metabólica entre la glucosa (Stanhope y col., 2009) y la fructosa pero no entre la fructosa y la sacarosa, algo que sería interesante de encontrar para respaldar los resultados de esta investigación.

4.4.2. TRIGLICÉRIDOS

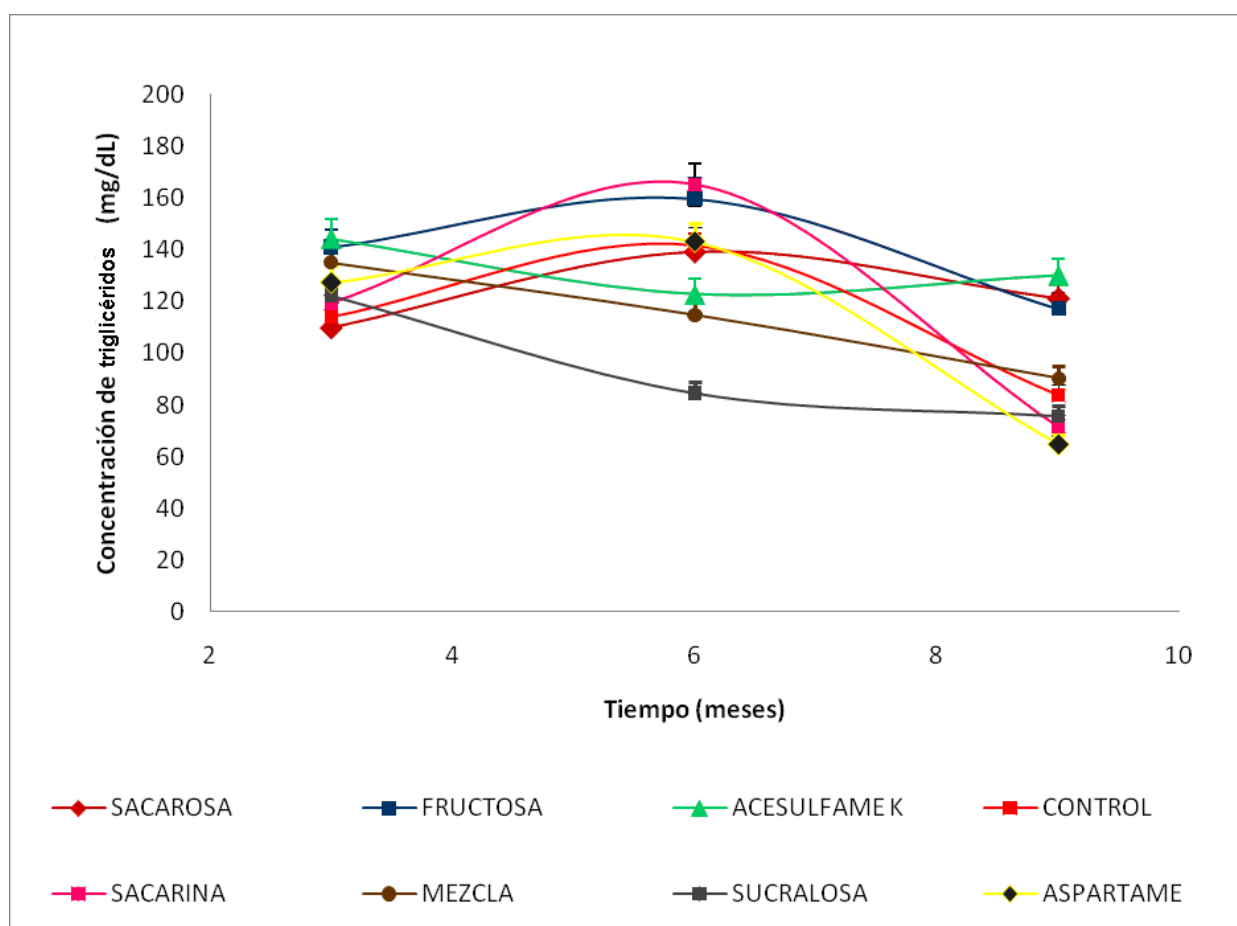
En la Tabla 4.40 aparecen los valores promedio de la concentración de triglicéridos para los diferentes grupos. En el primer tercio de la experimentación (104 días), el edulcorante que presentó un mayor aumento de triglicéridos en los grupos fue el de la sacarina. Por el contrario, el grupo que presentó el nivel más bajo fue el de la sucralosa. Para el segundo tercio (197 días) el grupo que presentó el nivel más alto fue el del acesulfame de K y el grupo que presenta el valor más bajo es el grupo control. Para el último tercio de investigación (288 días) el grupo que presentó un valor mayor fue el del acesulfame de K y el grupo que presentó el más bajo fue el del aspartame. Los datos, tanto altos como bajos, varían a excepción del grupo del acesulfame de K que fue el que presentó el valor más alto

durante los lapsos de 197 y 288 días (Gráfica 4.30). Los valores estuvieron todos por debajo de los valores máximos permisibles (que son de < 200 mg/dL).

Tabla 4.40. Promedios de la concentración de triglicéridos para cada lapso de experimentación (< 200 mg/dL)

EDULCORANTE	Promedio ± DE (n = 5) 104 días	Promedio ± DE (n = 5) 197 días	Promedio ± DE (n = 5) 288 días
ACESULFAME DE K	122.76 ± 38.81 ^{abc}	144.36 ± 33.90	130.12 ± 34.01
ASPARTAME	143.12 ± 34.93 ^{bc}	132.15 ± 55.17	64.99 ± 28.82
CONTROL	141.54 ± 50.70 ^{bc}	114.00 ± 65.36	86.73 ± 19.13
FRUCTOSA	159.50 ± 41.30 ^{bc}	140.85 ± 69.62	117.16 ± 53.19
MEZCLA DE EDULCORANTES	114.82 ± 25.32 ^{ab}	134.98 ± 37.28	90.32 ± 49.03
SACAROSA	89.54 ± 15.02 ^a	138.99 ± 28.92	121.07 ± 41.36
SACARINA	165.13 ± 58.25^c	119.43 ± 59.16	71.61 ± 37.56
SUCRALOSA	88.02 ± 26.30^a	122.13 ± 28.16	75.71 ± 40.39

Nota: Las letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$)



Gráfica 4.30. Promedio de la concentración de triglicéridos (288 días)

Puede observarse que el grupo que presentó la mayor concentración de triglicéridos fue el de la sacarina. Es importante mencionar que, a pesar de ser el de más alta cantidad, no

supera los límites máximos permisibles para que estos puedan llegar a causar alguna enfermedad.

4.4.2.1 Análisis estadístico de los tres bloques de experimentación para triglicéridos: 104 días, 197 días, 288 días

4.4.2.2. Análisis intergrupos: Primer etapa de 104 días

Para el primer tercio de la experimentación (104 días), el edulcorante que presentó un mayor aumento de triglicéridos en los animales modelo fue la sacarina y, por el contrario, el grupo que presentó el nivel más bajo fue el de la sucralosa. Sí existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de triglicéridos entre un nivel de edulcorante y otro (Tabla 4.41).

Tabla 4.41. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de triglicéridos a los 104 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	30309.4	7	4329.92	2.90	0.0183
Intra grupos	47815.7	32	1494.24		
Total	78125.1	39			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación de medias utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados se presentan en la Tabla 4.42 y Gráfica 4.31.

De estos datos podría inferirse que la fructosa y la sacarina están haciendo que los triglicéridos aumenten en los animales modelo, mientras que la sacarosa y la sucralosa no. Este hallazgo debe estudiarse en experimentos futuros.

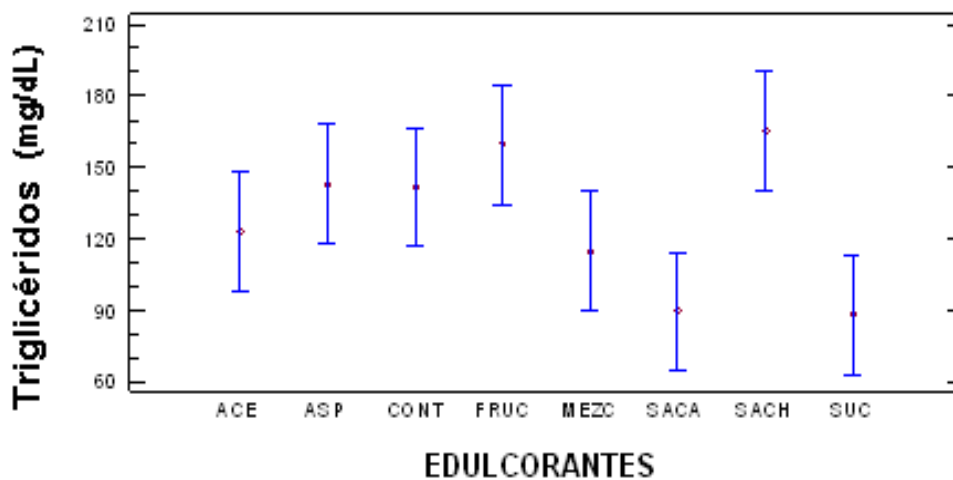
4.4.2.3. Análisis intergrupos: Segunda etapa de 197 días

Para la segunda etapa (197 días) se puede ver que el grupo que presentó el nivel más alto fue el del acesulfame de K, por el contrario el grupo que presenta un nivel más bajo es el grupo control. La Tabla 4.43 muestra que NO existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de triglicéridos entre un nivel de edulcorante y otro.

Tabla 4.42. Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de triglicéridos a los 104 días según el tipo de edulcorante.

Método LSD usando 95%			
EDULCORANTE	Media	Contraste	Diferencia
SUC	88.02a	Asp - saca	*53.576
SACA	89.542a	Asp - suc	*55.098
MEZC	114.818ab	Cont - saca	*52
ACE	122.758abc	Cont - suc	*53.522
CONT	141.542bc	Fruc - saca	*69.96
ASP	143.118bc	Fruc - suc	*71.482
FRUC	159.502bc	Mezc - sach	*-50.316
SACH	165.134c	Saca - sach	*-75.592
		Sach - suc	*77.114

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa



Gráfica 4.31. Comparación entre medias del promedio de triglicéridos a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados se presentan en la Tabla 4.44 y Gráfica 4.32.

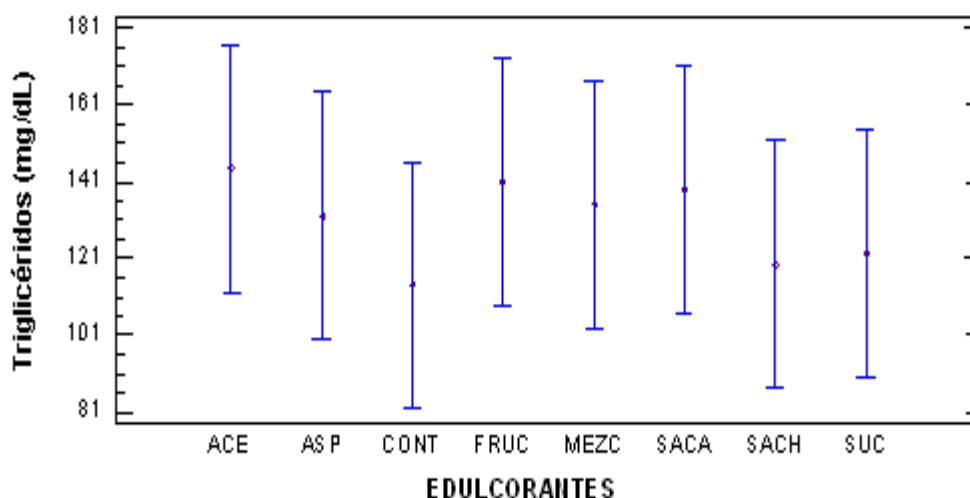
Tabla 4.43. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de triglicéridos a los 197 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	4288.24	7	612.605	0.25	0.9695
Intra grupos	79317.8	32	2478.68		
Total	83606.0	39			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Tabla 4.44. Contraste múltiple rango para el promedio de la Concentración de triglicéridos a los 197 días según el tipo de edulcorante.

Método LSD usando 95%	
EDULCORANTE	Media
CONT	114.004
SACH	119.43
SUC	122.128
ASP	132.146
MEZC	134.976
SACA	138.988
FRUC	140.846
ACE	144.36



Gráfica 4.32 Comparación entre medias del promedio de triglicéridos a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.4.2.4. Análisis intergrupos: Tercera etapa de 288 días

Para el último tercio (288 días) se puede observar que el grupo que presentó un mayor incremento fue el del acesulfame de K, y, por el contrario, el grupo que presentó el más bajo nivel fue el del aspartame. El análisis de varianza o andeva muestra que NO existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de triglicéridos

entre un nivel de edulcorante y otro (ver Tabla 4.45). Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados se presentan en la Tabla 4.46 y Gráfica 4.33.

Tabla 4.45. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de triglicéridos a los 288 días según el tipo de edulcorante

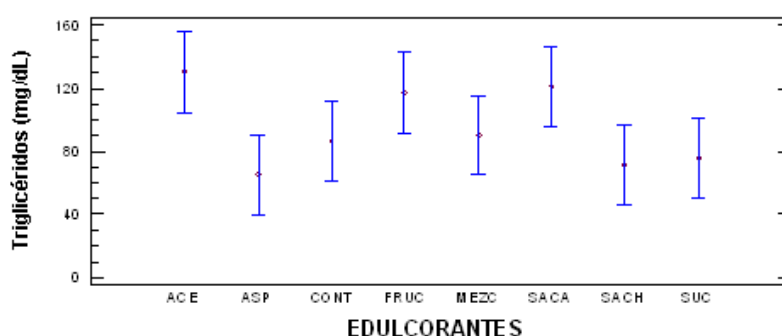
ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	21566.1	7	3080.87	2.00	0.0864
Intra grupos	49361.3	32	1542.54		
Total	70927.4	39			

Donde: *FV*= Fuente de variabilidad, *SC*=Suma de cuadrados, *g.l.*=grados de libertad, *CM*=Cuadrado medio, *F*=estadístico de prueba y valor- *P*=significancia observada

Tabla 4.46. Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de triglicéridos a los 288 días según el tipo de edulcorante

Método <i>LSD</i> usando 95%			
EDULCORANTE	Media	Contraste	Diferencia
ASP	64.994a	Ace - asp	*65.126
SACH	71.606ab	Ace - sach	*58.514
SUC	75.712ab	Ace - suc	*54.408
CONT	86.734abc	Asp - fruc	*-52.162
MEZC	90.316abc	Asp - saca	*-56.076
FRUC	117.156bc		
SACA	121.07bc		
ACE	130.12c		

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa



Gráfica 4.33. Comparación entre medias del promedio de triglicéridos a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.4.3. GLUCOSA

Se muestran a continuación, en la Tabla 4.47, los valores promedio de las concentraciones de glucosa en suero sanguíneo de los especímenes en estudio. En el primer tercio del

tiempo de experimentación (104 días) se aprecia que el grupo que presentó un mayor aumento de glucosa fue el de aspartame y el que presentó el nivel más bajo fue el del acesulfame de K. Para el segundo tercio (197 días), el grupo que presentó el nivel más alto fue el de la mezcla de acesulfame de K y aspartame y el grupo que presenta un nivel más bajo es el del control. Para el último tercio (288 días), el grupo que presentó un mayor incremento fue el de la sacarosa y el que presentó el más bajo nivel fue el de la mezcla de acesulfame de K y aspartame. Como puede verse, aunque se presenten valores altos, no exceden los valores máximos permisibles de $< 0.72 - 1.45$ g/L.

Tabla 4.47. Tabla de promedios de la concentración de glucosa del plasma sanguíneo recolectado para cada lapso de experimentación

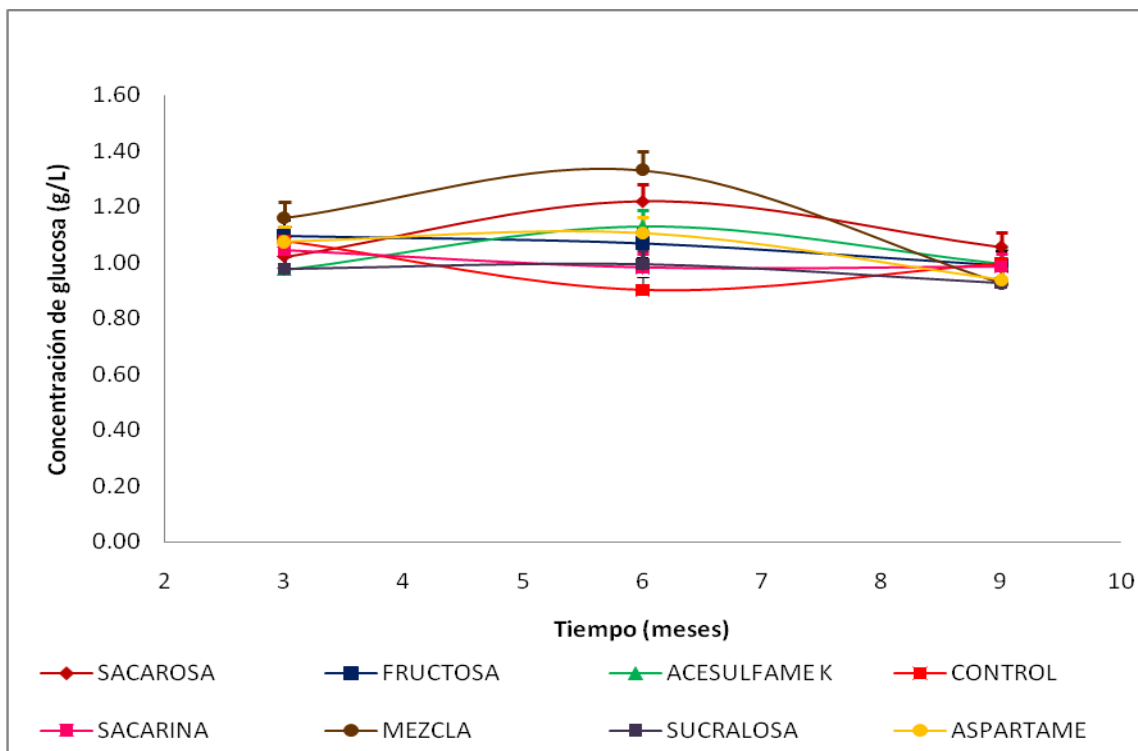
EDULCORANTE	Promedio \pm DE (n = 5) 104 días	Promedio \pm DE (n = 5) 197 días	Promedio \pm DE (n = 5) 288 días
ACESULFAME DE POTASIO	0.956 \pm 0.121	1.142 \pm 0.086 ^{ab}	0.998 \pm 0.095
ASPARTAME	1.163 \pm 0.216	1.144 \pm 0.072 ^{ab}	0.940 \pm 0.161
CONTROL	1.078 \pm 0.045	0.902 \pm 0.100^a	0.996 \pm 0.062
FRUCTOSA	1.103 \pm 0.145	1.068 \pm 0.279 ^{ab}	0.989 \pm 0.122
MEZCLA DE EDULCORANTES	1.068 \pm 0.130	1.269 \pm 0.386^b	0.927 \pm 0.131
SACAROSA	1.014 \pm 0.205	1.217 \pm 0.370 ^b	1.057 \pm 0.098
SACARINA	1.044 \pm 0.229	0.982 \pm 0.102 ^{ab}	0.984 \pm 0.163
SUCRALOSA	0.971 \pm 0.167	1.001 \pm 0.151 ^{ab}	0.934 \pm 0.134

Nota: Las letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

La Gráfica 4.34 indica que los grupos que presentaron diferencias estadísticamente significativas fueron los de: control – mezcla de acesulfame de K y aspartame, control – sacarosa. Se encuentran de forma decreciente la concentración de glucosa de los grupos así: mezcla de acesulfame de K y aspartame > sacarosa > aspartame > acesulfame de K > fructosa > sucralosa > sacarina > control. Como se ve, los grupos durante este periodo de experimentación no sobrepasaron el límite máximo permitido para que lleguen a causar alguna enfermedad.

4.4.3.1 Análisis estadístico de los tres bloques de experimentación: 104 días, 197 días, 288 días

Con esta parte del análisis estadístico se pueden conocer las diferencias significativas entre los grupos durante los tres bloques de tiempo. Estos son datos obtenidos del análisis estadístico ANDEVA (ANOVA por sus siglas en inglés).



Gráfica 4.34. Promedio de los valores de la concentración de glucosa (288 días)

4.4.3.2. Análisis intergrupos: Primer etapa de 104 días

El Valor-P es mayor que 0.05 indicando que NO existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de glucosa entre un nivel de edulcorante y otro (Tabla 4.48).

Tabla 4.48. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de glucosa a los 104 días según el tipo de edulcorante

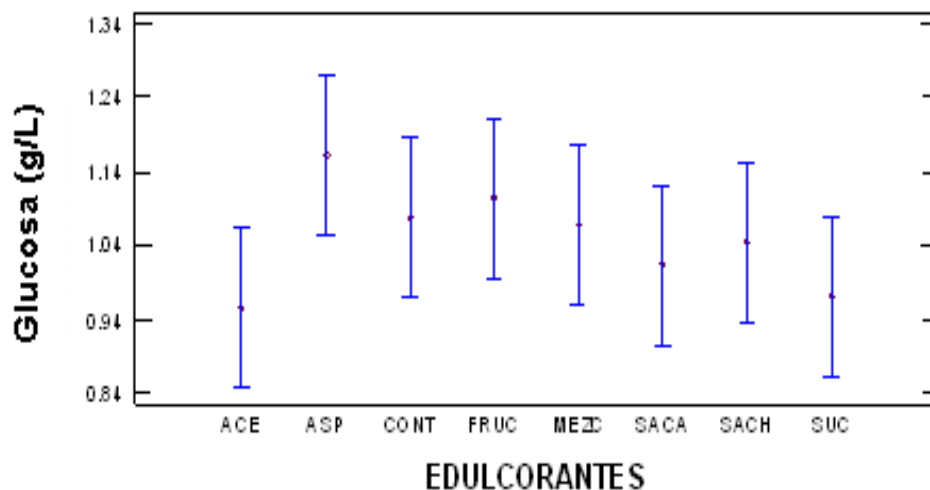
ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	0.165488	7	0.0236412	0.85	0.5575
Intra grupos	0.893255	32	0.0279142		
Total	1.05874	39			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados se presentan en la Tabla 4.49 y Gráfica 4.35.

Tabla 4.49. Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de glucosa a los 104 días según el tipo de edulcorante

Método <i>LSD</i> usando 95%	
EDULCORANTE	Media
ACE	0.9562
SUC	0.971
SACA	1.0142
SACH	1.0442
MEZC	1.06775
CONT	1.078
FRUC	1.1032
ASP	1.1632



Gráfica 4.35. Comparación entre medias del promedio de glucosa a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.4.3.3. Análisis intergrupos: Segunda etapa de 197 días

En la Tabla 4.50 se muestra el Valor-P que es mayor de 0.05, por lo que NO existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de glucosa entre un nivel de edulcorante y otro.

Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados se presentan en la Tabla 4.51 y Gráfica 4.36.

Tabla 4.50. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de glucosa a los 197 días según el tipo de edulcorante

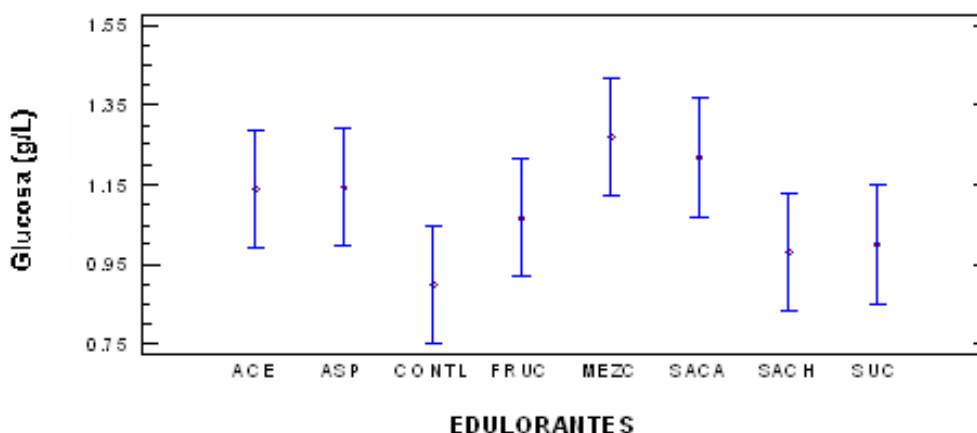
ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	0.547533	7	0.0782191	1.49	0.2049
Intra grupos	1.67591	32	0.0523723		
Total	2.22345	39			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Tabla 4.51. Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de glucosa a los 197 días según el tipo de edulcorante

Método LSD usando 95%			
EDULCORANTES	Media	Contraste	Diferencia
CONT	0.9016a	Cont – mezc	*-0.3676
SACH	0.9816ab		
SUC	1.0014ab		
FRUC	1.0676ab		
ACE	1.142ab	Cont - saca	*-0.3156
ASP	1.144ab		
SACA	1.2172b		
MEZC	1.2692b		

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa



Gráfica 4.36. Comparación entre medias del promedio de glucosa a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

El de mayor concentración de glucosa es el grupo de la mezcla (acesulfame de K y aspartame) seguido del de la sacarosa, del de aspartame, del de acesulfame de K, del de fructosa, del de sucralosa y del de sacarina y el de menor concentración es el control.

4.4.3.4. Análisis intergrupos: Tercera etapa de 288 días

La Tabla 4.52 muestra que NO existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de glucosa entre un nivel de edulcorante y otro.

Tabla 4.52. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de glucosa a los 288 días según el tipo de edulcorante

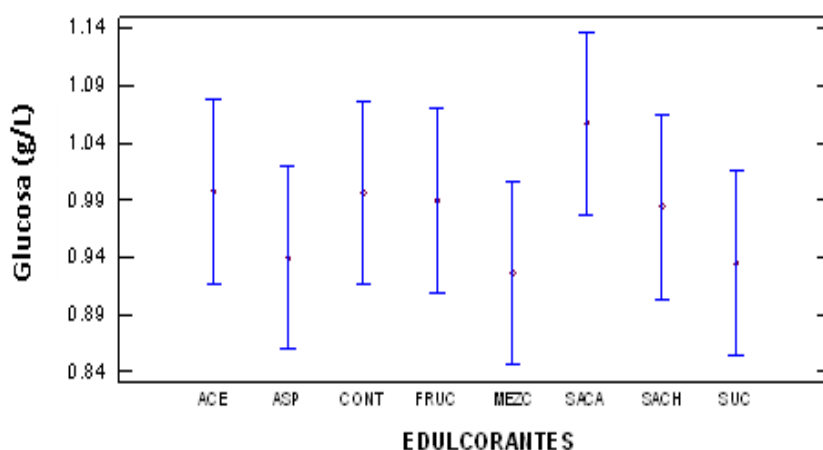
ANÁLISIS DE VARIANZA					
<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>g.l.</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P>0.05</i>
Entre grupos	0.0652014	7	0.00931449	0.60	0.7539
Intra grupos	0.499691	32	0.0156154		
Total	0.564893	39			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados se presentan en la Tabla 4.53 y Gráfica 4.37.

Tabla 4.53. Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración de glucosa a los 288 días según el tipo de edulcorante

Método <i>LSD</i> usando 95%	
EDULCORANTES	Media
MEZC	0.9268
SUC	0.9344
ASP	0.9402
SACH	0.9842
FRUC	0.9894
CONT	0.9962
ACE	0.9975
SACA	1.0568



Gráfica 4.37. Comparación entre medias del promedio de glucosa a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.4.4. INSULINA

Se muestran, a continuación, en la Tabla 4.54 y la Gráfica 4.38 los valores del promedio de la concentración de insulina. Para el primer tercio de la experimentación (104 días), el grupo que presentó la mayor concentración de insulina fue el de la sacarina. El grupo que presentó el nivel más bajo fue el de la sucralosa. Para el segundo tercio (197 días) el grupo que presentó el nivel más alto fue el de la mezcla de acesulfame de K y aspartame. El más bajo es el grupo control. Para el último tercio (288 días), el grupo que presentó un mayor incremento fue el de la sacarosa y el grupo que presentó el más bajo nivel fue el del aspartame. Ninguno de los datos obtenidos exceden los valores máximos permisibles que son de $< 1.2 - 2.4 \text{ ng/mL}$.

Tabla 4.54. Promedios de la concentración de insulina para cada lapso de experimentación ($< 1.2-2.4 \text{ ng/mL}$)

EDULCORANTE	Promedio \pm DE (n = 5) 104 días	Promedio \pm DE (n = 5) 188 días	Promedio \pm DE (n = 5) 288 días
ACESULFAME DE K	0.481 \pm 0.137 ^{ab}	0.743 \pm 0.174	0.976 \pm 0.180
ASPARTAME	0.823 \pm 0.549 ^{ab}	0.808 \pm 0.593	0.494 \pm 0.147
CONTROL	0.516 \pm 0.389 ^{ab}	0.722 \pm 0.378	0.764 \pm 0.261
FRUCTOSA	0.605 \pm 0.190 ^{ab}	0.812 \pm 0.451	0.944 \pm 0.804
MEZCLA DE ACESULFAME DE K Y ASPARTAME	0.860 \pm 0.299 ^{ab}	1.373 \pm 0.915	0.737 \pm 0.430
SACAROSA	0.661 \pm 0.289 ^{ab}	1.146 \pm 0.384	1.139 \pm 0.532
SACARINA	1.048 \pm 0.962^b	0.940 \pm 0.795	0.673 \pm 0.353
SUCRALOSA	0.358 \pm 0.159^a	0.985 \pm 0.092	1.065 \pm 0.488

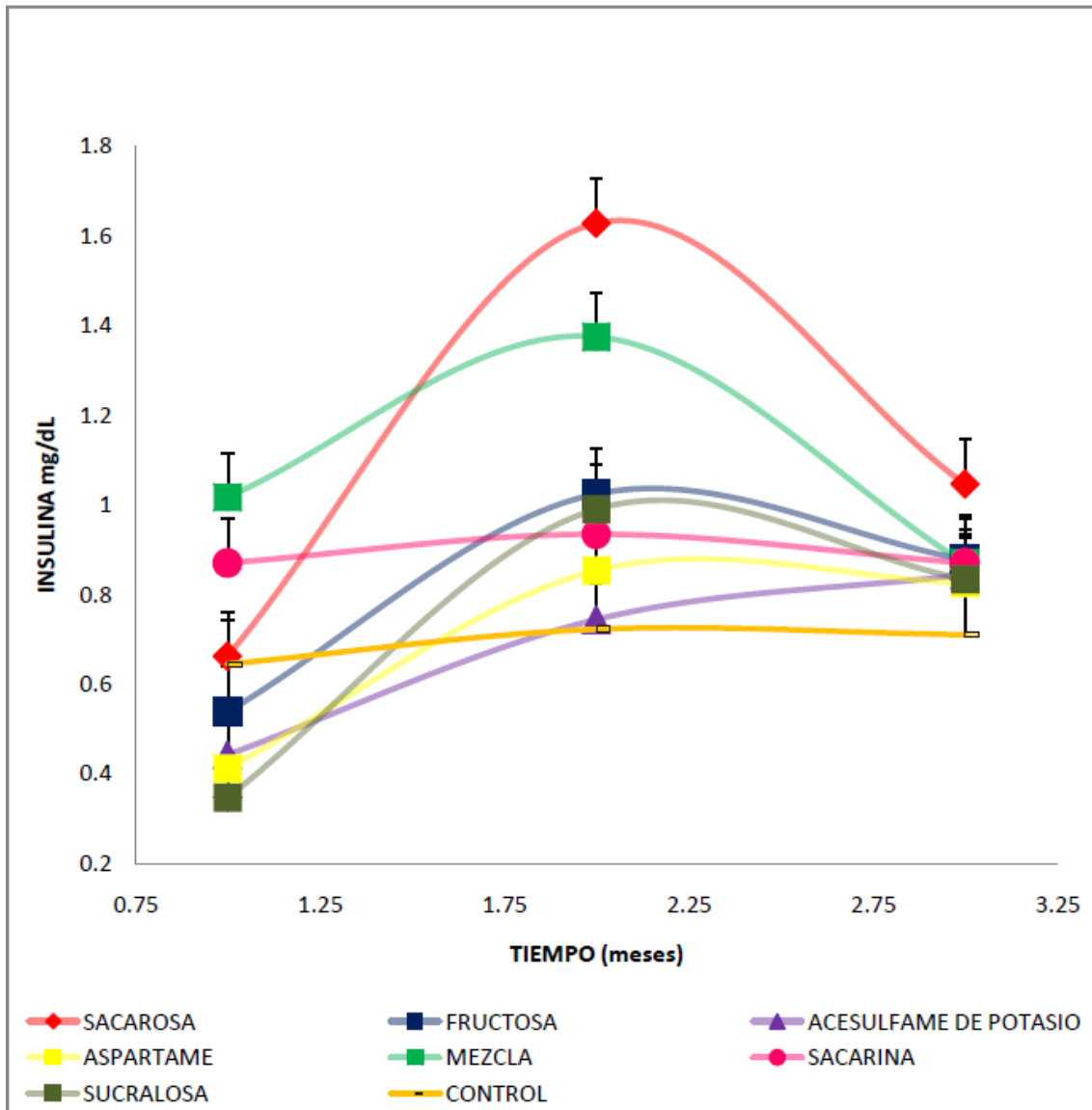
Nota: Las letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

4.4.4.1 Análisis estadístico de los tres bloques de experimentación: 104 días, 197 días, 288 días

Con esta parte del análisis estadístico se pueden conocer las diferencias significativas entre los grupos durante los tres bloques de tiempo. Estos son datos obtenidos del análisis estadístico ANDEVA (ANOVA por sus siglas en inglés).

4.4.4.2. Análisis intergrupos: Primer etapa de 104 días

La Tabla 4.55 muestra que el Valor-P es mayor de 0.05, por lo que NO existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de insulina entre un nivel de edulcorante y otro.



Gráfica 4.38. Promedio de la concentración de insulina (288 días)

Tabla 4.55. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de insulina a los 104 días según el tipo de edulcorante

ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	1.81686	7	0.259551	1.27	0.2952
Intra grupos	6.53096	32	0.204092		
Total	8.34781	39			

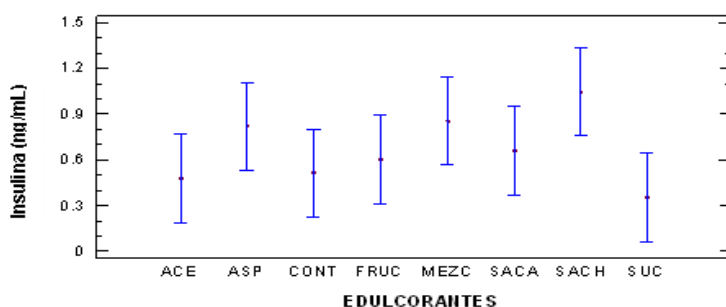
Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (LSD, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados se presentan en la Tabla 4.56 y Gráfica 4.39.

Tabla 4.56. Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración insulina a los 104 días según el tipo de edulcorante

Método <i>LSD</i> usando 95%			
EDULCORANTE	Media	Contraste	Diferencia
SUC	0.35784a	Sach - suc	*0.68982
ACE	0.48056ab		
CONT	0.51646ab		
FRUC	0.60486ab		
SACA	0.66112ab		
ASP	0.82258ab		
MEZC	0.86038ab		
SACH	1.04766b		

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa



Gráfica 4.39. Comparación entre medias del promedio de insulina a los 104 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.4.4.3. Análisis intergrupos: Segunda etapa de 197 días

La Tabla 4.57 muestra que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de insulina entre un nivel de edulcorante y otro, ya que el valor-P del coeficiente-F tiene un valor mayor que 0.05.

Tabla 4.57. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de insulina a los 197 días según el tipo de edulcorante

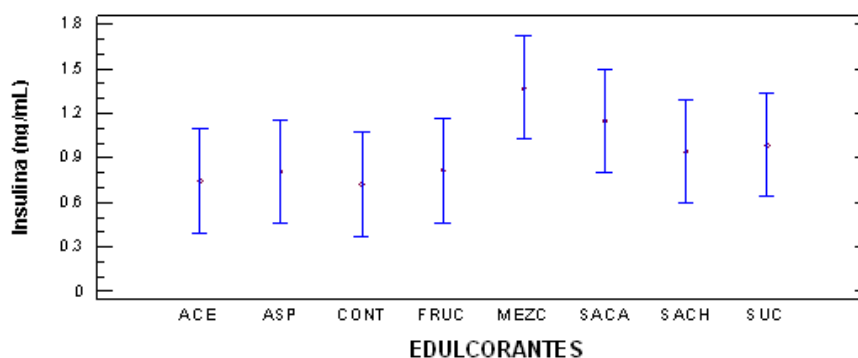
ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	1.76229	7	0.251756	0.86	0.5512
Intra grupos	9.41771	32	0.294304		
Total	11.18	39			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados se presentan en la Tabla 4.58 y Gráfica 4.40.

Tabla 4.58. Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración insulina durante 197 días según el tipo de edulcorante

Método <i>LSD</i> usando 95%	
EDULCORANTE	Media
CONT	0.722
ACE	0.74252
ASP	0.80798
FRUC	0.81178
SACH	0.9396
SUC	0.9846
SACA	1.14626
MEZC	1.37306



Gráfica 4.40. Comparación entre medias del promedio de insulina a los 197 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

4.4.4.4. Análisis intergrupos: Tercera etapa de 288 días

El Valor-P tiene un valor mayor que 0.05, lo que demuestra que NO existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de insulina entre un nivel de edulcorante y otro (Tabla 4.59). Para conocer cuál de los tratamientos presentaba la mayor diferencia se realizó una comparación utilizando el procedimiento de mínimas diferencias significativas (*LSD*, por sus siglas en inglés) con un $\alpha=0.05$ los resultados se presentan en la Tabla 4.60 y Gráfica 4.41.

4.59. Análisis de varianza (andeva o ANOVA, por sus siglas en inglés) para el promedio de la concentración de insulina a los 288 días según el tipo de edulcorante

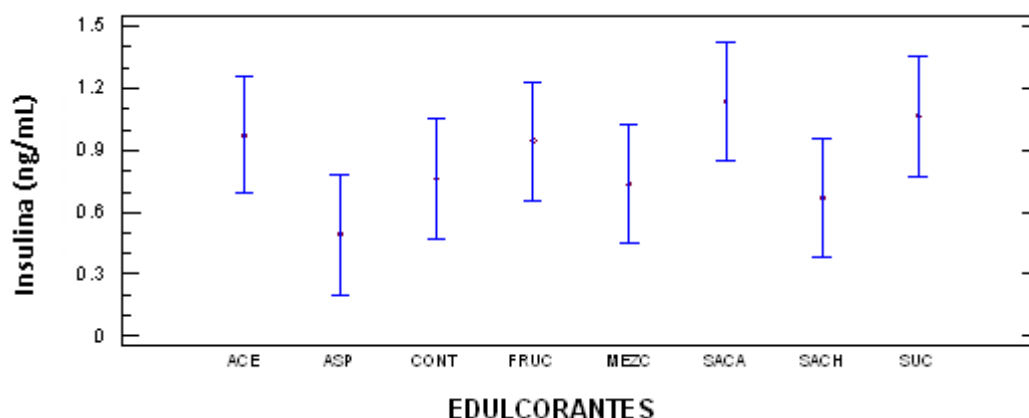
ANÁLISIS DE VARIANZA					
FV	SC	g.l.	CM	F	P>0.05
Entre grupos	1.66213	7	0.237447	1.19	0.3374
Intra grupos	6.39595	32	0.199874		
Total	8.05809	39			

Donde: FV= Fuente de variabilidad, SC=Suma de cuadrados, g.l.=grados de libertad, CM=Cuadrado medio, F=estadístico de prueba y valor- P=significancia observada

Tabla 4.60. Contraste múltiple de rango para el promedio de la concentración insulina a los 288 días según el tipo de edulcorante

Método <i>LSD</i> usando 95%			
EDULCORANTES	Media	Contraste	Diferencia
ASP	0.49412a	Asp – saca	*-0.6446
SACH	0.67292ab		
MEZC	0.73654ab		
CONT	0.76416ab		
FRUC	0.94416ab		
ACE	0.97582ab		
SUC	1.06478ab		
SACA	1.13872b		

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa



Gráfica 4.41. Comparación entre medias del promedio de insulina a los 288 días de experimentación, empleando $\alpha=0.05$

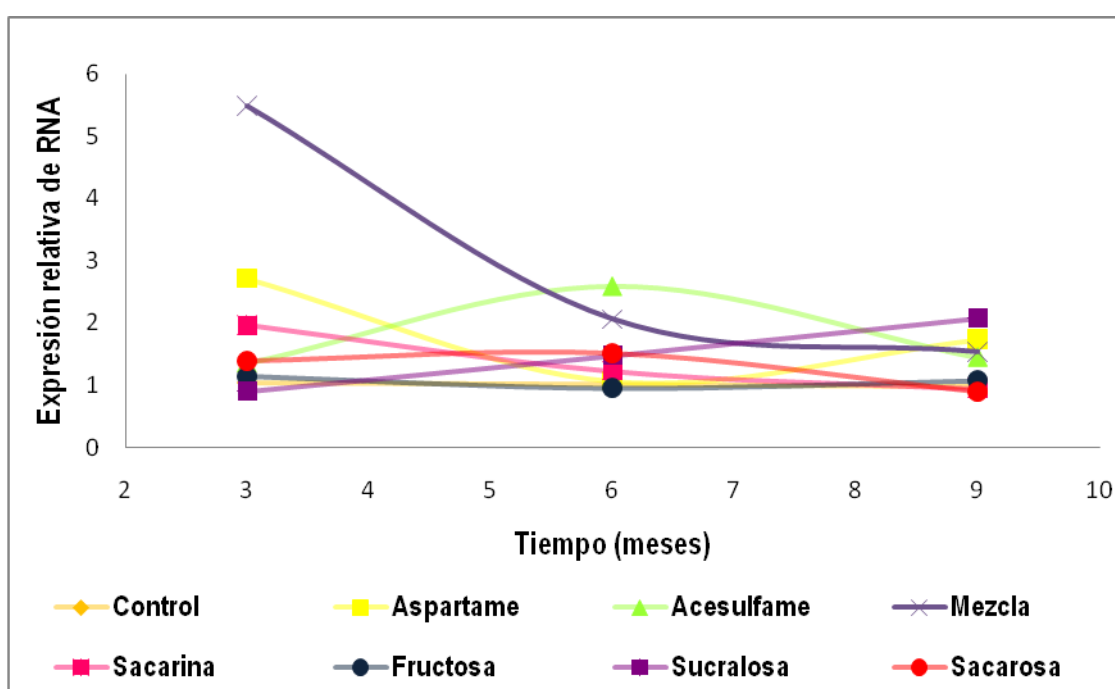
4.4.5. Proteína de respuesta de unión a esteroides (*SREBP – 1*)

En la Tabla 4.61 y la Gráfica 4.42 se encuentran los promedios de los datos obtenidos del tejido hepático para la expresión del gen. El gen de proteína de respuesta de unión a esteroides (*SREBP-1*, por sus siglas en inglés) es el encargado de la transcripción de genes implicados en la biosíntesis de ácidos grasos, una regulación entre el colesterol y el metabolismo de los ácidos grasos. Hay que recordar que si el gen se expresa en gran cantidad se produce un aumento de la producción o síntesis de ácidos grasos, provocando el desarrollo de un hígado graso (ya que el gen de proteína de respuesta de unión a esteroides, *SREBP-1*, por sus siglas en inglés, es parte integral de un aumento en la síntesis hepática de ácidos grasos) (Repa y col., 2000).

Tabla 4.61. Promedios de la expresión relativa del gen *SREBP-1* para cada lapso de experimentación

SREBP-1	104 días	197 días	288 días
Grupos	expresión relativa	Expresión relativa	Expresión relativa
Control	1.033 ± 0.193 ^a	1.006 ± 0.063 ^a	0.966 ± 0.078 ^a
Aspartame	2.716 ± 0.275 ^b	1.067 ± 0.154 ^a	1.735 ± 0.096 ^a
Acesulfame	1.356 ± 0.093 ^a	2.597 ± 0.027^b	1.449 ± 0.194 ^a
Mezcla	5.489 ± 0.792^c	2.061 ± 0.164 ^b	1.532 ± 0.101 ^a
Sacarina	1.962 ± 0.127 ^a	1.224 ± 0.075 ^a	0.942 ± 0.114 ^a
Fructosa	1.140 ± 0.125 ^a	0.951 ± 0.01^a	1.069 ± 0.361 ^a
Sucralosa	0.903 ± 0.061^a	1.476 ± 0.319 ^a	2.075 ± 0.160^b
Sacarosa	1.387 ± 0.242 ^a	1.512 ± 0.124 ^a	0.884 ± 0.115^a

Nota: Letras diferentes dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y los * indican una diferencia significativa



Gráfica 4.42. Promedio de la expresión de genes de *SREBP-1* (288 días de experimentación)

También en la Tabla 4.61 se encuentran los grupos donde existen diferencias estadísticamente significativas: Control – ace, control – mez, control – sach, control – asp, control – fruc, control – saca, ace – asp, ace – mez, ace – suc, ace – saca, ace – fruc, ace – sach, asp – mez, asp – ace, asp – sach, asp – fruc, asp – suc, asp – saca, mez – sach, mez – suc, mez – saca, mez – fruc, sach – saca.

Los grupos que presentaron la mayor expresión del gen para la etapa de 104 días fueron el grupo de la sal de acesulfame de K y aspartame. Para los 197 días, fue el del acesulfame y, finalmente, para los 288 días el grupo de la sucralosa.

Es muy importante observar que los edulcorantes que provocaron la mayor expresión del gen fueron los hipoenérgicos o bajos de calorías. Esto es muy relevante ya que este gen indica que puede provocarse la acumulación de grasas y el incremento de colesterol dando como consecuencia lo ya mencionado antes, que es el hígado graso. Puede verse que los grupos que no provocan una expresión mayor del gen son los siguientes, para la etapa de los 104 días es el grupo de la sucralosa, para los 197 días es el grupo de la fructosa y, finalmente, para los 288 días es el grupo de la sacarosa.

4.4.6. Proteína de unión al elemento de respuesta a hidratos de carbono (*ChREBP*)

El gen de *ChREBP* es un importante mediador de la acción de la glucosa en el gen de la expresión lipogénica y una clave determinante de la síntesis de lípidos. Esto se da cuando la glucosa se introduce en la vena porta hepática en grandes cantidades y las concentraciones hepáticas del glucógeno se recuperan. La glucosa se convierte en el hígado en lípidos, que son exportados como lípidos de muy baja densidad (*VLDL*) y, finalmente, se almacena en forma de triglicéridos en el tejido adiposo. Cuando existe una dieta rica en hidratos de carbono se estimulan las vías de la glucólisis y la lipogénica, mientras que el hambre o una dieta rica en lípidos reduce su actividad (Postic y col., 2007).

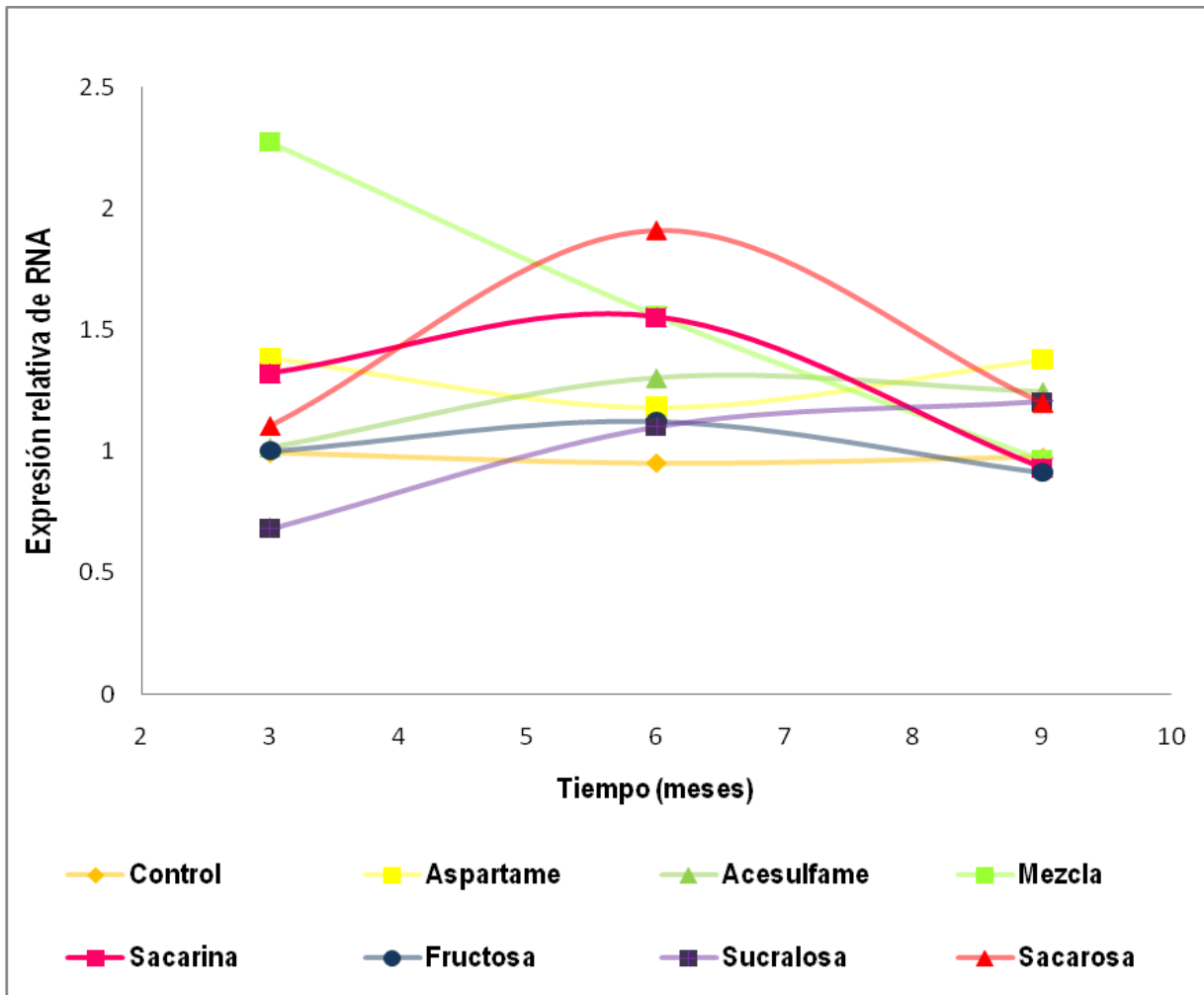
En la Gráfica 4.43 y en la Tabla 4.62 se presentan los valores promedios de la expresión del gen. Para los grupos que mostraron la mayor expresión del gen fueron, para los tres primeros meses, la mezcla de acesulfame de potasio y aspartame, para los 197 días el grupo de la sacarina, y finalmente, para los 288 días el grupo del aspartame.

Nuevamente es importante mencionar que los 3 grupos que activaron la síntesis de ácidos grasos para ser convertidos en energía fueron edulcorantes hipoenérgicos. Esto es un hallazgo que se debe corroborar con la determinación de la expresión de otros genes con un nuevo estudio. Las diferencias estadísticamente significativas fueron entre los siguientes grupos: Control – ace, Control – mez, Control – sach, Control – saca, ace – asp, ace – mez, ace – suc, ace – saca, asp – mez, asp – saca, mez – saca, mez – suc, mez – saca, mez – fruc, saca – suc, sach – saca, suc – saca, saca – fruc.

Los grupos que presentan la menor expresión del gen fueron los de la sucralosa, para las tres fases del experimento. Esto es muy importante ya que, además de ser un edulcorante hipoenérgico, es un grupo que se encuentra por debajo del grupo control. Como se ha mencionado con anterioridad, para este tipo de determinaciones no existen valores

reportados, por lo que solamente se puede realizar la comparación de los grupos con respecto de su propio control.

Si la sucralosa se encuentra por debajo del grupo control esto significa que este tipo de edulcorante es un inhibidor del gen, lo cual hace que no haya gasto de energía sino que exista una acumulación de ácidos grasos. Para el periodo de 197 días, el control es el grupo con la menor expresión del gen y, finalmente, para los 288 días puede verse que la expresión del gen también se encuentra por debajo del grupo control. Este grupo es la fructosa. Esto podría explicar por qué este edulcorante provoca la acumulación de tejido graso.



Gráfica 4.43. Valores promedio de la expresión de genes de *ChREBP* (288 días)

Tabla 4.62. Datos promedio de la expresión relativa del gen *ChREBP* para cada lapso de experimentación

ChREBP	104 días	197 días	288 días
Grupos	Expresión relativa	Expresión relativa	Expresión relativa
Control	0.993 ± 0.025 ^b	0.953 ± 0.050^a	0.977 ± 0.073 ^a
Aspartame	1.384 ± 0.146 ^b	1.182 ± 0.066 ^a	1.377 ± 0.075^b
Acesulfame	1.017 ± 0.047 ^b	1.303 ± 0.072 ^a	1.246 ± 0.056 ^b
Mezcla	2.274 ± 0.150^c	1.56 ± 0.079 ^a	0.964 ± 0.120 ^a
Sacarina	1.321 ± 0.171 ^b	1.553 ± 0.209 ^a	0.930 ± 0.061 ^a
Fructosa	1.001 ± 0.067 ^b	1.123 ± 0.051 ^a	0.913 ± 0.205^a
Sucralosa	0.682 ± 0.063^a	1.100 ± 0.139 ^a	1.204 ± 0.237 ^b
Sacarosa	1.104 ± 0.092 ^b	1.909 ± 0.146^b	1.198 ± 0.022 ^b

4.4.7. Discusión de los hallazgos sobre los parámetros bioquímicos

Es muy importante discutir y analizar esta parte del experimento en forma conjunta, como su nombre lo dice “Parámetros bioquímicos”. Estos parámetros son parte de las vías o rutas metabólicas y, por tal motivo, no es conveniente analizarlos de forma individual.

Es importante recordar que de las 4 pruebas realizadas para los niveles de los metabolitos del suero sanguíneo colectado durante la disección, ningún valor excede los niveles máximos permisibles. La dieta que todos los especímenes ingirieron era isocalórica e isoproteica, una dieta balanceada.

Por otro lado, los especímenes estuvieron en su infancia, adolescencia y primera adultez, 288 días de 730, que es su esperanza de vida según la empresa Harlan (2009). Esto sería equivalente en un humano a sus primeros 30 años si viviera alrededor de 75 años.

En la Tabla 4.63 se encuentran los valores máximos de las concentraciones de colesterol y triglicéridos encontrados en esta investigación para cada lapso de estudio. Los valores más altos se dieron entre los especímenes de los grupos de edulcorantes hipoenérgicos (mezcla de acesulfame de K y aspartame, sacarina y acesulfame de K) y uno de los grupos de edulcorante energético, la fructosa. Cabe mencionar que ninguno de ellos activa el metabolismo que produce la sensación de saciedad.

Tabla 4.63. Concentraciones altas de colesterol y triglicéridos para cada bloque de tiempo (sin diferencia significativa)

Tiempo de experimentación (meses)	Colesterol mg/dL		Triglicéridos mg/dL	
	3	Mezcla de acesulfame de K y aspartame	90.06	Sacarina
6	Fructosa	101.89	Acesulfame de K	144.36
9	Fructosa	101.99	Acesulfame de K	130.12

Como ya se mencionó, el metabolismo de la fructosa es diferente del de la glucosa, ya que la glucosa entra a la células por un transporte del mecanismo Glut-4, que es dependiente de la insulina en la mayoría de los tejidos (Stanhope y col., 2009).

La insulina activa su receptor que, a su vez aumenta la cantidad de transportadores de glucosa en la superficie celular, lo que facilita la entrada de la glucosa. Ya dentro de la célula, la glucosa se fosforila por la glucoquinasa para dar glucosa-6-fosfato, siendo el comienzo del metabolismo intracelular de la glucosa. Con las enzimas presentes en esta vía metabólica se puede controlar la conversión de glucosa-6-fosfato para dar el glicerol que es la parte principal de los triglicéridos.

En contraste con la glucosa, la fructosa entra en las células a través de un Glut-5 siendo un transporte que no depende de la insulina, ya que este transportador está ausente en el páncreas, las células y el cerebro. Esto limita la entrada de la fructosa en estos tejidos. La glucosa proporciona señal de “saciedad” al cerebro, mientras que la fructosa lo hace menos. Ya dentro de la célula es fosforilada a fructosa-1-fosfato, donde es fácilmente hidrolizada por las aldolasas para formar las triosas, que es el paso más importante para la síntesis de fosfolípidos y triacilglicerol (Bray y col., 2004; Stanhope y col., 2009).

Para el metabolismo de los hidratos de carbono se obtuvieron concentraciones de glucosa con un nivel máximo de **0.72 – 1.45 g/L** y de insulina con un nivel máximo de **1.2 – 2.4 ng/mL**. En la Tabla 4.64 se encuentran los valores máximos de las concentraciones de glucosa e insulina para cada bloque de tiempo experimental, donde los valores más altos se presentaron tanto para edulcorantes energéticos (sacarosa), como para hipoenergéticos (aspartame, sacarina, mezcla de acesulfame de K y aspartame).

Tabla 4.64. Concentraciones altas de glucosa e insulina para cada bloque de tiempo (sin diferencias significativas)

Tiempo de experimentación (meses)	Glucosa g/L		Insulina ng/mL	
	3	Aspartame	1.163	Sacarina
6	Mezcla de acesulfame de K y aspartame	1.269	Mezcla de acesulfame de K y aspartame	1.373
9	Sacarosa	1.057	Sacarosa	1.139

Analizando los datos de los grupos de edulcorantes hipoenérgicos que se presentan en los dos primeros tercios del experimento, se tuvieron datos que señalan un incremento de las concentraciones de glucosa en sangre después de 12 horas de ayuno y de insulina, para el caso de los especímenes que consumían la mezcla de acesulfame de K y aspartame.

Para el último tercio de la experimentación, el grupo de la sacarosa tiene las concentraciones más altas de glucosa y de insulina, lo cual era esperable (Tabla 4.64)

Analizando estas dos pruebas en conjunto, siendo la insulina una hormona polipeptídica que es segregada por las células β de los islotes de Langerhans del páncreas y liberada en dos fases, su producción en la primera fase se desencadena como una respuesta rápida al aumento de los niveles de glucemia, mientras que en la segunda fase ocurre una liberación lenta y sostenida, la cual es independiente de la cantidad de glucosa presente en la sangre.

Esta hormona promueve la absorción de la glucosa en el tejido muscular y adiposo, disminuye la producción de glucosa hepática y reduce la lipólisis por lo que limita la circulación de ácidos grasos libres (Tovar-Palacio, 2009).

Puede verse que, para los edulcorantes artificiales, la mezcla de acesulfame y aspartame parece mostrar una correlación entre la concentración de glucosa y la producción de insulina, como la que ocurre con la sacarosa en la que este fenómeno es el esperado.

Para el caso de los otros dos edulcorantes artificiales, aspartame y sacarina, éste no parece ser el caso. Esto indica que es importante seguir estudiando estos fenómenos en experimentos futuros.

De la misma forma, en la Tabla 4.65 se encuentran los valores máximos de la expresión de los genes *SREBP-1* y *ChREBP*.

Tabla 4.65. Expresión relativa de los genes *SREBP-1* y *ChREBP* para cada bloque de tiempo (sin diferencias significativas)

Tiempo de experimentación (meses)	<i>SREBP-1</i>		<i>ChREBP</i>	
	3 (104 d)	Mezcla de acesulfame de K y aspartame	5.489	Mezcla de acesulfame de K y aspartame
6 (197 d)	Acesulfame de K	2.597	Sacarosa	1.909
9 (288 d)	Sucralosa	2.075	Aspartame	1.377

Recordando que, para estas determinaciones, no se encuentra en la bibliografía algún parámetro con el cual se pueden correlacionar los resultados, para los bloques de experimentación de los edulcorantes hipoenérgicos y la sacarosa para los 197 días, son los que provocan que estos genes tengan la mayor expresión. Estos genes son conocidos como factores transcripcionales, donde *SREBP-1* es el gen que promueve la transcripción de enzimas lipogénicas y, por ende, un aumento en la producción de triacilglicéridos. Esto también se puede dar con la ayuda de la ingesta de una dieta rica en grasas. Por otro lado, una dieta rica en glucosa incrementa la actividad del factor transcripcional *ChREBP* que, igualmente, aumenta la transcripción de enzimas de la lipogénesis, dando como resultado un aumento en la síntesis de lípidos e incrementando el almacenamiento de los triacilglicéridos en el tejido adiposo y produciendo un aumento en el tamaño de los adipocitos, lo que es conocido como “hipertrofia” (Tovar-Palacio, 2009).

De acuerdo con estos resultados y considerando que la dieta de los grupos que ingirieron edulcorantes artificiales era la misma, resulta interesante que, nuevamente, la mezcla de acesulfame de potasio y aspartame sea la que tenga los valores más altos de ambas expresiones de genes. Esto plantea, como en el caso anterior, la importancia de continuar con estas investigaciones.

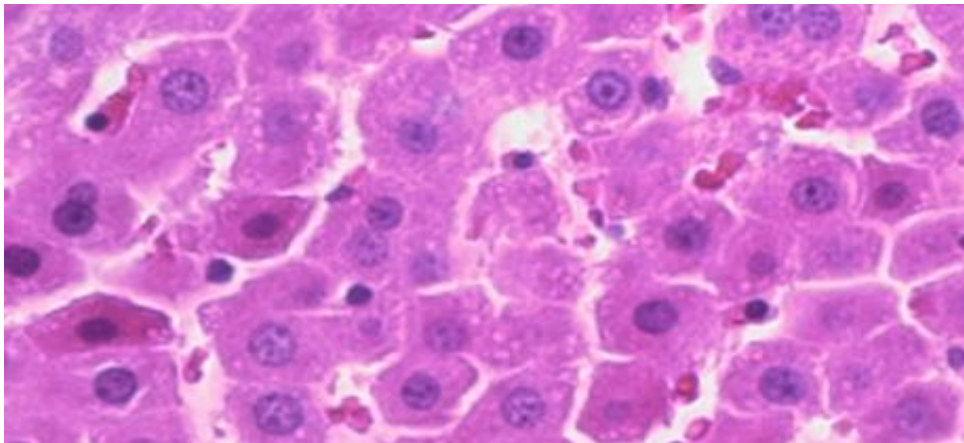
Para corroborar el efecto de los distintos edulcorantes se realizaron análisis histológicos en los tejidos de algunos de los órganos colectados, los cuales se presentan a continuación.

4.5. Análisis histológicos de los órganos colectados

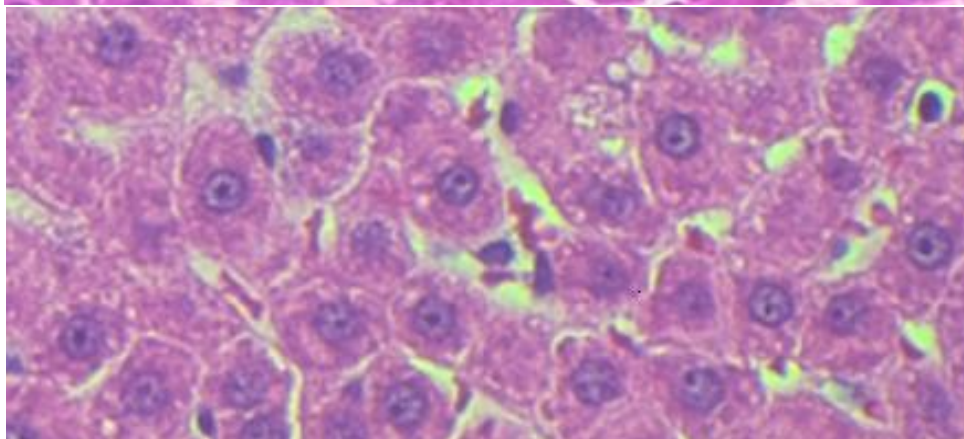
En esta investigación se hizo un análisis cualitativo de los órganos colectados: hígado, riñón, páncreas, corazón y tejido retroperitoneal. Este análisis se llevó a cabo para evaluar los especímenes que consumieron los diferentes edulcorantes en los periodos de experimentación. Para poder entender mejor la forma en que se encontraban los órganos existen algunas fotos donde se muestran las diferentes características de un nivel y otro. También se siguió la nomenclatura que se muestra a continuación (Figuras 4.1 a 4.4)

4.5.1. HÍGADO

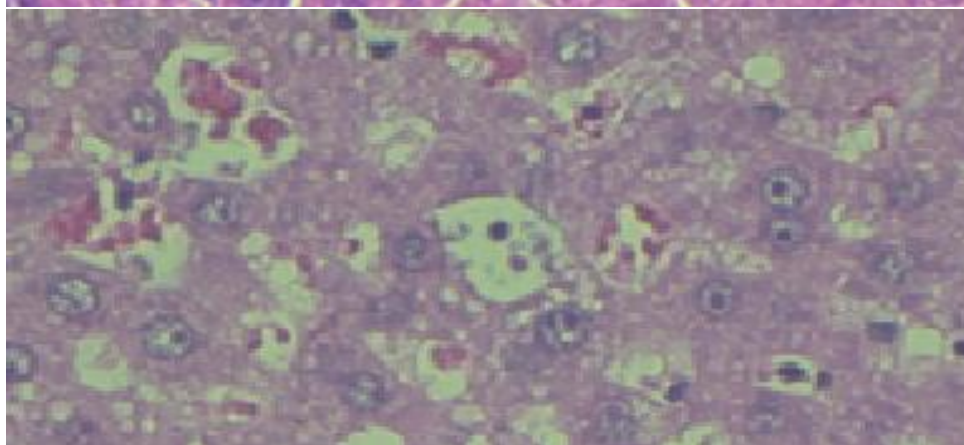
En la Figura 4.1 se muestra el tejido hepático con diferentes niveles de vacuolización citoplasmática (V.C. se refiere a vacuolización citoplasmática).



+
Vacuolización
leve



++
Vacuolización
moderada

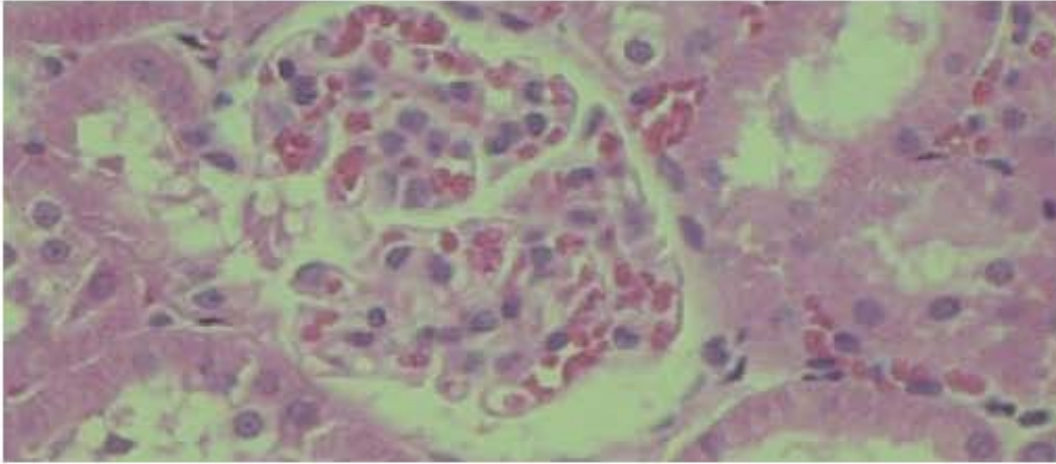


+++
Vacuolización
grave

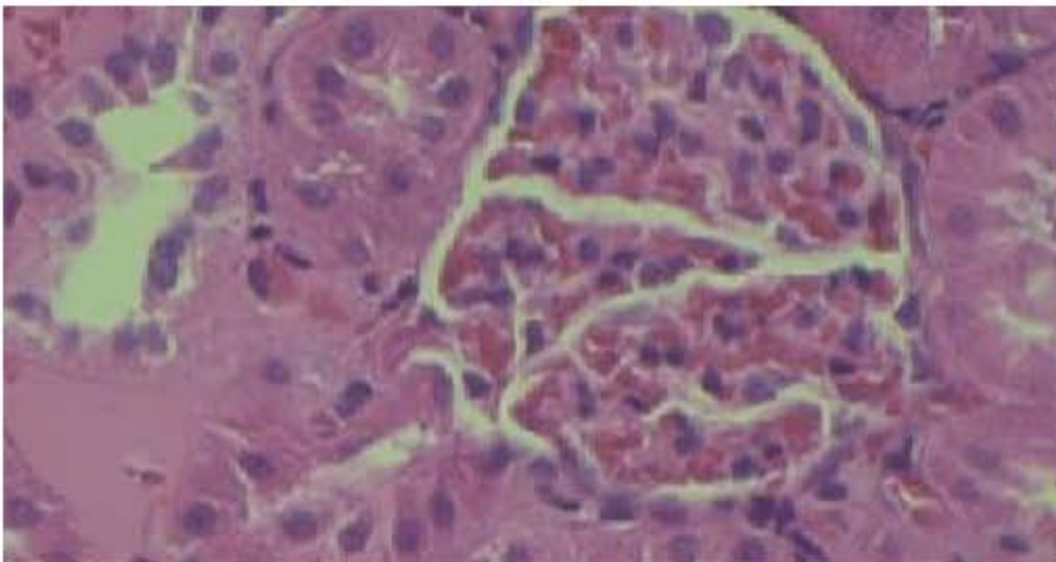
Figura 4.1. Histologías en cortes de hígado

4.5.2. RIÑÓN

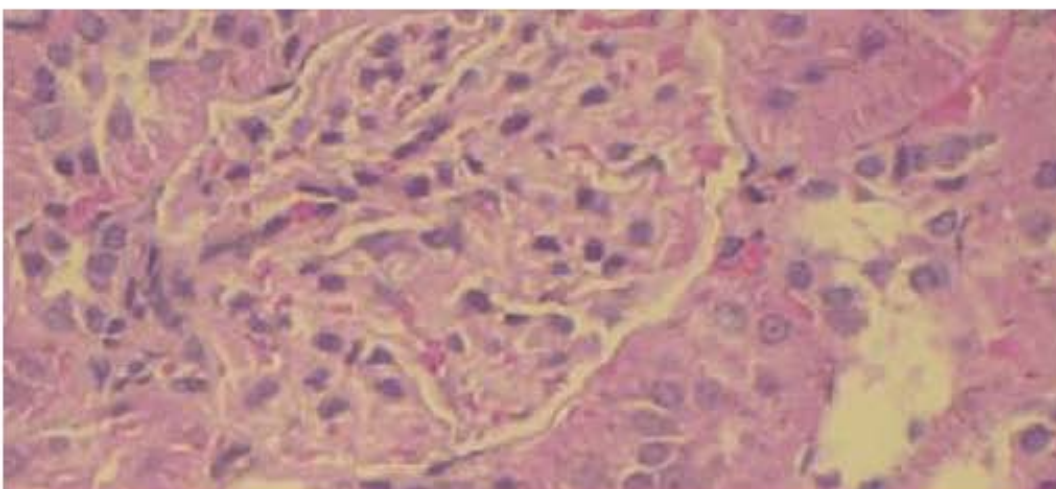
En la Figura 4.2 se muestra el tejido renal con diferentes niveles de celularidad glomerular (**C.G.**) y de la forma y espesor de su membrana basal (**M.B.**).



+
Leve



++
Moderad
a



+++
Grave

Figura 4.2. Histología en corte de riñón

4.5.3. CORAZÓN

Para el tejido cardíaco, dado que no se encontraron cambios entre los tejidos de los especímenes estudiados, no se consideró necesario realizar microfotografías (SCPA, sin cambios u observaciones de tipo patológico aparentes).

4.5.4. TEJIDO RETROPERITONEAL

Considerando para el tejido retroperitoneal el diámetro adipocitario (D.A.) como el promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) en μm , en la Figura 4.3 se presentan tres cortes histológicos de ejemplo, con los valores de los diámetros en cada uno de ellos.

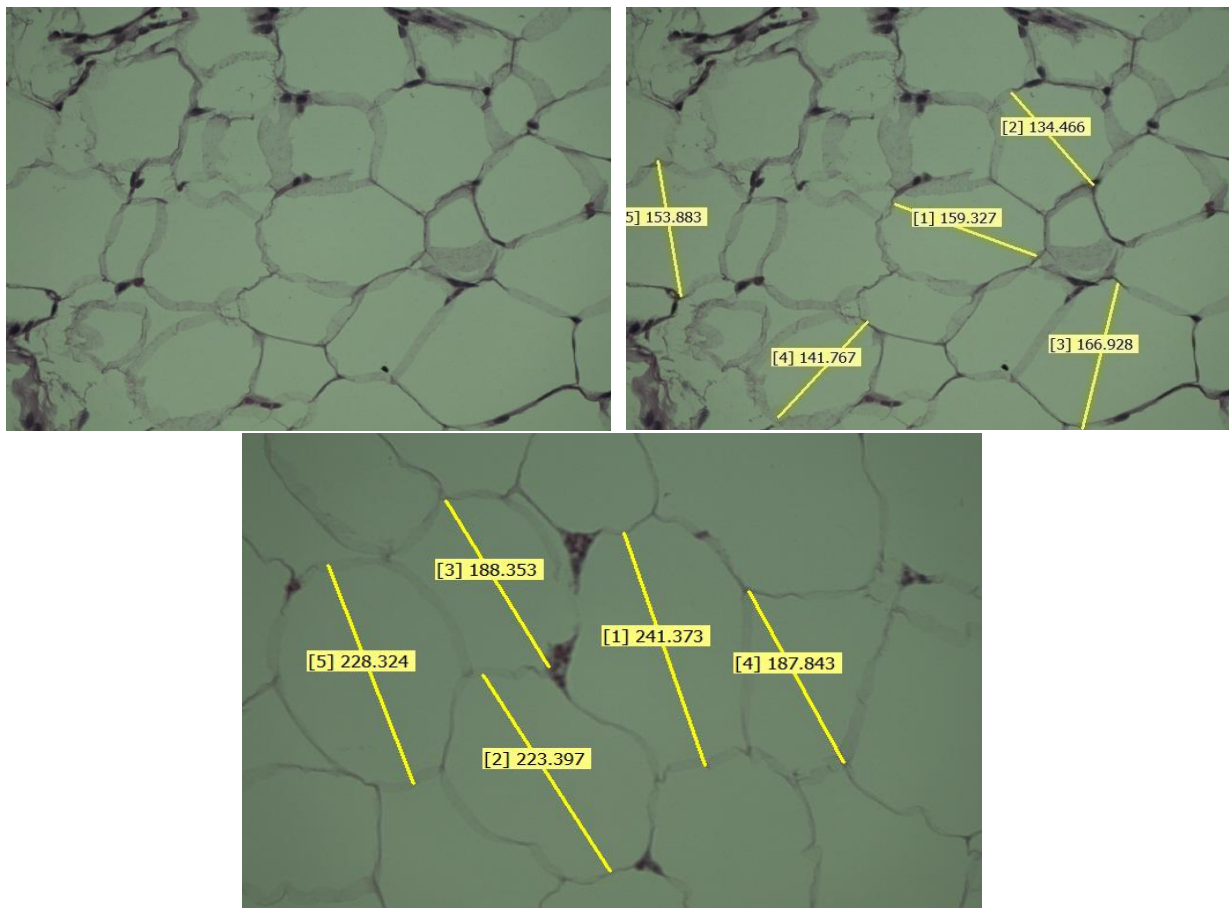


Figura 4.3. Histología en corte de tejido retroperitoneal

4.5.5. PÁNCREAS

En la Figura 4.4 se muestra el tejido pancreático midiendo los islotes pancreáticos.

Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos

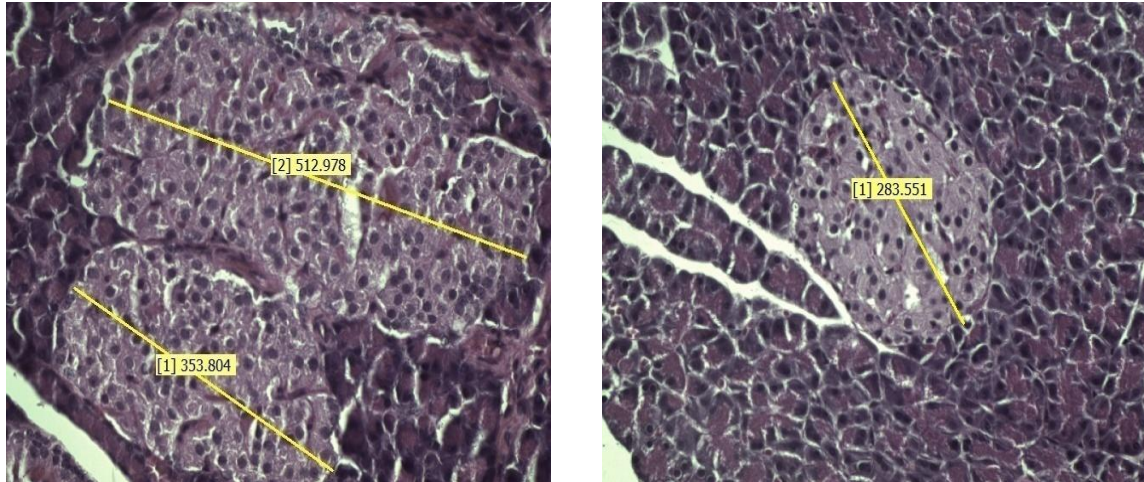


Figura 4.4. Histología en corte de páncreas

En la Tabla 4.66a se muestra la información sobre el análisis de los estudios histológicos para los hígados de los especímenes de cada uno de los grupos de edulcorantes y el control, durante los 104, 197 y 288 días de experimentación. No se observaron daños fisiológicos en el hígado ya que la vacuolización celular muestra una condición que va de leve a moderada para los siete edulcorantes en estudio y para el grupo control.

La Tabla 4.66b tiene los datos para los edulcorantes y el control a los 3 periodos de experimentación para el riñón. Tampoco se encontraron daños fisiológicos en el órgano colectado. La celularidad glomerular del tejido renal es de leve a moderada. En la membrana basal, el tejido presenta una condición de leve a moderada, lo cual indica que no hay daño ni problemas en los glomérulos.

La Tabla 4.66c lista los resultados de las observaciones microscópicas del tejido cardíaco para los especímenes que ingirieron los diferentes edulcorantes y el grupo control, durante los 3 periodos de experimentación. No se encontraron daños fisiológicos, mostrando el tejido del corazón que no hubo cambios patológicos aparentes.

Tabla 4.66a. Datos promedio para los análisis histológicos en hígado

Edulcorante	104 días	197 días	288 días
Acesulfame de K	V.C. leve, masa 9.3 – 9.8 g	V.C leve, masa 10.8 – 11.8g	V.C moderada, masa 8.7 – 12.7g
Aspartame	V.C. leve, masa de 6.3 – 11g	V.C. moderada, masa 9.9 – 12.9g	V.C. moderada, masa 7.9 – 10.9g
Control	V.C leve, masa 9.6 – 12g	V.C. leve, masa 9.7 – 14.7g	V.C leve – moderada, masa 9.2 – 11.1g
Sal de acesulfame de K y Aspartame	V.C leve, masa 9.8 – 12g	V.C. leve, masa 10.2 – 13.5g	V.C. moderada – grave, masa 4.2 – 11.3g
Sacarina	V.C leve, masa 8.9 – 12.6g	V.C. moderado, masa 10.1 – 15g	V.C. moderada, masa 8.9 – 11.9g
Sucralosa	V.C leve, masa 7.4 – 11.3g	V.C. moderada, masa 10.7 – 12.4g	V.C. moderada, masa 9.7 – 11.2g
Sacarosa	V.C. leve, masa 9.2 – 10.8g	V.C. moderada, masa 10.2 – 13.3g	V.C. moderada, masa 8.7 – 11g
Fructosa	V.C. leve, masa 10.9 – 11.9g	V.C. leve, masa 10.7 – 12.2g	V.C. leve a moderada, masa 8.7 – 13.5g

En la Tabla 4.66d se tiene el análisis de las observaciones del tejido del páncreas. No se encontraron daños fisiológicos para ninguno de los grupos en los tres períodos en estudio. El tamaño del islote del páncreas no era muy diferente, lo cual indica que no hay una mayor producción de insulina.

Tabla 4.66b. Datos promedio para los análisis histológicos en riñón

Edulcorante	104 días	197 días	288 días
Acesulfame de K	C.G. leve a moderada, M.B. leve a moderada. masa 0.8 – 1.1g	C.G. moderada, M. B. moderada, masa 1.1 – 1.3g	C.G. leve, M. B. moderada, masa 0.8 – 1.1g
Aspartame	C.G leve, MB leve, masa de 0.8 – 1.1g	CG moderada, MB moderada, masa 0.9 – 1.2g	CG leve, MB moderada, masa 0.8 – 1.1g
Control	C.G. moderada, M.B. moderada, masa 0.8 – 1.1g	C.G. moderada, M.B. moderada, 1 -1.3g	C.G. moderada, M.B moderada, masa 0.4 – 1.3g
Sal de acesulfame de K y Aspartame	C.G. leve, M. B. leve, masa 0.8 – 1.2g	C.G. moderada, M.B. moderada, masa 0.9 – 1.3g	C.G. leve, M.B. moderada, masa 0.9 – 1.2g
Sacarina	C. G. leve, M.B. moderada, masa 1 – 1.2g	C.G. moderada, M.B. leve, masa 1 – 1.5g	C.G. leve, M.B. moderada, masa 1 – 1.2g
Sucralosa	C.G. moderada, M.B. moderada, masa 0.8 – 1.1g	C.G. moderado, M.B. moderado, masa 1 – 1.2g	C.G. leve, M.B. moderada, masa 0.6 – 1.1g
Sacarosa	C.G. leve, M.B. moderada, masa 0.8 – 1g	C.G. moderada, M.B. moderada, masa 0.9 – 1.1g	C.G., leve M.B. moderada, masa 0.8 – 1.1g
Fructosa	C.G. leve, M. B. leve, masa 0.9 – 1.5g	C.G. moderada, M.B. moderada, masa 1 – 1.1g	C.G. leve, M.B. moderada, masa 1 – 1.3g

Tabla 4.66c. Datos promedio para los análisis histológicos en corazón

Edulcorante	104 días	197 días	288 días
Acesulfame de K	SCPA masa no determinada	SCPA masa 1.2 – 1.4g	SCPA, masa 1 – 1.3g
Aspartame	SCPA, masa no determinada	SCPA, masa 0.8 – 1.3g	SCPA, masa 1 – 1.2g
Control	SCPA, masa no determinada	SCPA, masa 0.8 – 1.3g	SCPA, masa 0.9 – 1.2g
Sal de acesulfame de K y Aspartame	SCPA, masa no determinada	SCPA, masa 1.1 – 1.4g	SCPA, masa 1.1 – 1.7g
Sacarina	SCPA, masa no determinada	SCPA, masa 1.2 – 1.7g	SCPA, masa 1 – 1.2g
Sucralosa	SCPA, masa no determinada	SCPA, masa 1.1 – 1.3g	SCPA, masa 1.1 – 1.2g
Sacarosa	SCPA, masa no determinada	SCPA, masa 1 – 1.6g	SCPA, masa 0.8 – 1.2g
Fructosa	SCPA, masa no determinada	SCPA, masa 1.1 – 1.5g	SCPA, masa 1 – 1.3g

Tabla 4.66d. Datos promedio para los análisis histológicos en páncreas

Edulcorante	104 días	197 días	288 días
Acesulfame de K	Promedio de 5 islotes pancreáticos es de 227 – 474.7, masa no determinada	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 270.09 – 586.6, masa 0.4g	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 291 – 499.8, masa 0.1 – 0.5g
Aspartame	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 265.7 – 547.2, masa no determinada	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 425.7 – 731.7, masa 0.1 – 0.3g	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 379.5 – 438.9, masa 0.3 – 0.7g
Control	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 310.5 – 363.8, masa no determinada	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 484.7 – 738.3, masa 0.4 – 0.8g	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 228.4 – 558.7, masa 0.1 – 0.7g
Sal de acesulfame de K y Aspartame	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 275.5 – 487.3, masa no se determinó	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 428.8 – 667.8, masa 0.1 – 0.5g	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 239.7 – 394.6, masa 0.3 – 0.5g
Sacarina	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 214.6 – 455.7, masa no determinada	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 368.3 – 596.7, masa 0.2 – 0.5g	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 279.5 – 494.6, masa 0.2 – 0.8g
Sucralosa	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 247.6 – 522.7, masa no determinada	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 369.7 – 397.2, masa 0.1 – 0.8g	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 350 – 493, masa 0.4 – 0.9g
Sacarosa	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 264.2 – 345.3, masa no determinada	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 324.1–645.02, masa 0.1 – 0.6g	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 355.7 – 551.7, masa 0.4 – 0.5g
Fructosa	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 352 – 504.4, masa no determinada	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 493.53–768.81, masa 0.4–0.6g	Promedio de medición de 5 islotes pancreáticos es de 236.9 – 397.9, masa 0.2 – 1g

La Tabla 4.66e tiene la información para lo observado con el tejido retroperitoneal de cada espécimen de los 7 grupos de edulcorantes y el control, durante los 3 periodos de experimentación. Tampoco se encontraron daños fisiológicos. De acuerdo con la edad, se va incrementando el diámetro de los glóbulos de grasa o tejido adipocitario graso del tejido retroperitoneal pero sin anomalías aparentes.

Tabla 4.66e. Datos promedio para los análisis histológicos en tejido retroperitoneal

Tejido retroperitoneal	104 días	197 días	288 días
Acesulfame de K	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 142.1 – 234.2 μm , masa de 11.6 – 22.8g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 265.6 – 374.4 μm , masa 8.4 – 22.5g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 158.8 – 314.4 μm , masa 11.1 – 20.9g
Aspartame	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 151.2 – 367.1 μm , masa 9.2 – 29.4g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 245.04 – 387.1 μm , masa 11.1 – 23.4g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 158.8 - 315 μm , masa 9.3 – 16.8g
Control	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 224.3 – 398.16 μm , masa 14.2 – 20g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 224.3 – 339.17 μm , masa 11.4 – 16.7g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 282.2 – 326.7 μm , masa 10.9 – 28.2g
Sal de acesulfame de K y Aspartame	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 209.2 – 322.18 μm , masa 20 – 39g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 276.9 – 317.4 μm , masa 10.1 – 20.8g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 241.6 – 281.4 μm , masa 12.5 – 17.4g
Sacarina	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 176.5 – 232.5 μm , 2.4 – 24.4g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 237.6 – 397.2 μm , 7.4 – 19.8g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 209.7 – 334.5 μm , masa 9.8 – 23.1g
Sucralosa	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 182.3 – 302.2 μm , masa 4.4 – 24.8g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 275.5 – 361.3 μm , masa 10.9 – 28.8g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 244.8 – 299.6 μm , masa 14.4 – 26.7g
Sacarosa	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 192.2 – 316.2 μm , masa 7.8 – 28.8g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 228.05 – 381.43 μm , masa 0.1 – 0.6g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 276.8 – 343.9 μm , masa 14.3 – 23.1g
Fructosa	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 177.7 - 311 μm , masa 10.8 – 24g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 287.3 – 359.79 μm , masa 11.2 – 24g	Diámetro Adipocitario (promedio de 5 adipocitos en 3 campos 40X) 226.6 – 397.9 μm , masa 9.7 – 40g

Durante los 288 días de experimentación no hubo daños visibles en los órganos colectados a los que se les realizó el análisis histológico. Probablemente, debido a que la vida media de las ratas es de 105 semanas, como se muestra en la **Figura 4.5** (Harlan, 2009), cuando tienen aproximadamente 40 semanas (36 – 37 semanas de experimentación más las 3 primeras semanas de vida, lactancia materna y adaptación), no es posible todavía ver alguna alteración. Se podría considerar que los especímenes bajo estudio se encuentran en una etapa de vida comparada con los humanos de adultez joven, como ya se mencionó antes.

Con la información obtenida en esta investigación se considera que sería recomendable realizar otro estudio donde se continuara hasta llegar incluso al climaterio (equivalente a los 50 o 60 años en un ser humano), que es cuando los especímenes se encuentren en una adultez mayor (65 semanas o 460 días), con una ingesta prolongada del edulcorante como está ocurriendo con las generaciones que nacieron en década de los años 60 del siglo XX y que ya tienen casi 50 años ingiriendo edulcorantes en forma sistemática en alimentos y bebidas procesados.

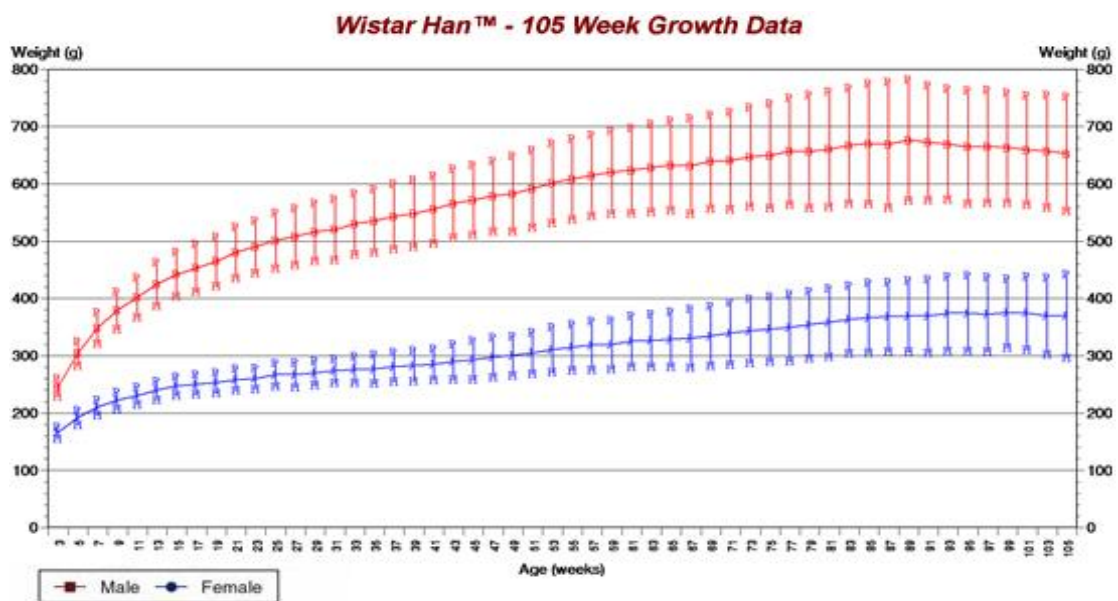


Figura 4.5. Vida media de las rata Wistar, alrededor de dos años o 104 semanas o 730 días (Harlan, 2009)

CAPÍTULO 5

DISCUSIÓN FINAL

Al analizar el efecto de los edulcorantes y su impacto sobre el incremento de masa corporal de los especímenes bajo estudio (ratas de la cepa Wistar), se estudiaron las ratas de cada grupo de edulcorantes incluyendo el grupo de control, donde:

Los grupos que presentaron la mayor ganancia de masa corporal para los 3 bloques de experimentación fueron los siguientes: Grupo recibiendo la sal de acesulfame de K y aspartame, aspartame y acesulfame de K, para los 104, 197 y 288 días de experimentación, respectivamente. Algo que llama la atención es que para estos tres bloques de experimentación fueron los grupos de los edulcorantes hipocalóricos los de mayor masa corporal. De acuerdo con los investigadores Mace y col. (2007), quienes trabajaron con ratas e investigaron si había un sistema de recepción del sabor dulce que regulara la ruta metabólica del GLUT-2 apical, el uso de sucralosa en concentración de 1mM, acesulfame de potasio (1mM) y sacarina (1mM) sobre la absorción de glucosa (20 a 100mM) perfundidas en el yeyuno *in vivo*, dieron resultados interesantes. A pesar de que los edulcorantes artificiales teóricamente no se absorben y/o metabolizan, parecen estar estimulando la absorción de la glucosa proveniente de la dieta (almidones, etc.). La glucosa actúa en el rango de 30-100 mM, mientras que los edulcorantes artificiales actúan en el de 1-2 mM. Estos autores señalan que los edulcorantes artificiales incrementan la absorción de la glucosa en el siguiente orden: Acesulfame de potasio \approx sucralosa > sacarina, en paralelo con su capacidad o habilidad para incrementar la concentración de calcio intracelular. Las observaciones de los autores son que los edulcorantes artificiales son nutrimentalmente activos ya que pueden enviar señales a un sistema de recepción que incrementa la absorción de glucosa durante una comida, lo cual tiene amplias implicaciones para la sensación de los nutrientes y para la nutrición en el tratamiento de la obesidad y de la diabetes.

El consumo de alimento para el grupo control fue de 22.28, 21.24 y 21.5 g a lo largo del experimento. Para los edulcorantes artificiales, en el caso de la mezcla de acesulfame de K y aspartame, fue de 23.94, 21.22 y 21.42 g, siendo el grupo con la mayor ingesta durante el primer tercio del experimento. Para el grupo del aspartame su ingesta fue de 20.22, 21.5 y

22.58 g, fue la más alta. Lo mismo ocurrió con el grupo del acesulfame de K, cuya ingesta diaria fue de 20.98, 21.44 y 21.76 g, mostrando así que su requerimiento se encontraba dentro del rango del grupo control. Los edulcorantes energéticos como la sacarosa, que activa a la leptina, promovieron menores ingestas de alimento, con un promedio de 14.34, 14.34 y 11.78 g durante todo el tiempo de experimentación. Para la fructosa, se tuvo una ingesta de alimento de 19.84, 16.46 y 16.46 g, lo que indica que su efecto sobre la leptina pareciera ser menor que el de la sacarosa. Para los grupos de la sacarina y la sucralosa, fueron de 21.42, 22.02 y 22.62 g y 19.8, 20.52 y 21.06 g. Se tuvieron diferencias significativas solamente con el grupo de la sacarosa, indicando que los grupos que ingirieron edulcorantes hipoenergéticos, fructosa y el control no eran diferentes significativamente. Los investigadores Fowler y colaboradores (2008) señalan que, al estar ausente el azúcar (sacarosa), no se provoca la sensación de saciedad (activación de la leptina), lo que hace que su ingestión de alimento aumente debido a la sensación de ayuno prolongado asociado a la grelina.

Respecto de los edulcorantes energéticos, comparados con los edulcorantes hipoenergéticos, los cuales al ser clasificados como aditivos, se encuentran reglamentados por límites máximos permisibles, sería conveniente tener la DL50 para ellos, especialmente para la fructosa, que es ampliamente usada en los llamados jarabes de alta fructosa en sustitución del azúcar (sacarosa).

Respecto de los edulcorantes hipoenergéticos, se tienen datos, tanto para humanos como para ratas de laboratorio. En el caso de la sucralosa se permiten 15 mg/kg masa corporal humana por día, mientras que para ratas se permiten 1500 mg/kg de masa corporal por día, como *NOEL* (Nivel sin efecto observable por sus siglas en inglés) (JSTFA, 1999), con un DL50 >10000 mg/kg día (Rowe y col., 2009). Obviamente, si se considerara el valor para los humanos, durante los tres bloques de tiempo se habrían excedido ese límite máximo permitido hasta por 5 veces, pero si se considera el señalado para ratas de laboratorio, está muy lejos de alcanzarse ese *NOEL*.

Del acesulfame de K se permiten 15 mg/kg masa corporal humana por día, valor que también se rebasa por 1.7 veces para estos experimentos. Naturalmente, considerando el límite para ratas de laboratorio, que era de 1500 mg/kg día como *NOEL* (Walker, 2011), no se excede ni lejanamente.

Para aspartame, no se superan los límites permitidos ni para humanos ni para ratas de laboratorio (2000 mg/kg día, según Yoe, 2011), ya que su ingesta fue menos de la mitad de

la cantidad permitida para humanos. Esto se debe a que el agua con este edulcorante no era del gusto de los animales modelo y tomaban la cantidad mínima de agua endulzada que su organismo requería. Esto ya se había observado en un estudio anterior (González-Filomeno, 2006; Martínez y col., 2010; Martínez-Tinajero y col., 2006).

Para la sacarina, sustancia cuyo consumo estuvo prohibido un tiempo, se tiene el límite con el menor valor, 5 mg/kg masa corporal humana por día. Considerándolo, en esta investigación, las ratas lo superaron por más de 4 veces. Naturalmente, para el valor DL50 (ya que no se encontró valor para NOEL), que es de 14200 mg/kg día (Merck, 2011), tampoco se llegó a semejante valor.

Para el grupo de la mezcla de acesulfame de K y aspartame, como no hay información para hacer la comparación, se hizo una regla de tres simple para obtener un valor de acuerdo con la proporción de las sustancias que la conforman, dando un valor de 12500 mg/kg día para ratitas de laboratorio y de 27.5 mg/kg masa corporal humana día. En este caso no se excede ninguno de los dos límites. Aparentemente, la presencia del acesulfame de potasio hace un poco menos desagradable para las ratas el sabor del agua edulcorada y bebían un poco más que con aspartame solamente.

Respecto del efecto de estos edulcorantes en los parámetros bioquímicos analizados en el suero sanguíneo colectado y en los genes expresados del tejido hepático que son primordiales para la síntesis de triglicéridos y colesterol, así como el análisis histológico de algunos de los órganos recolectados durante las disecciones de los especímenes, no se observaron efectos de alteración o cambio fisiológicos. Sería tal vez interesante, a la luz de los resultados encontrados para los edulcorantes hipoenergéticos, que eran ligeramente mayores que para los otros tres grupos, realizar un estudio a más largo plazo hasta alcanzar, no solamente las 65 semanas mencionadas en el capítulo anterior, sino incluso 85-87 semanas, que es cuando empieza ya el declive de los especímenes y ver los efectos en estos parámetros clave (bioquímicos, expresión de genes en tejido hepático y estudio de tejidos de órganos).

La correlación de los datos para glucosa y para insulina para los grupos que tuvieron los valores más altos (mezcla de acesulfame K y aspartame y sacarosa, en el segundo y tercer períodos) parece indicar que su metabolismo de los hidratos de carbono era perfectamente congruente con la concentración de insulina producida por las células β de los islotes de Langerhans del páncreas. Dado que son ratas adultas jóvenes probablemente por ello todavía no muestran efectos de la ingestión crónica de estos edulcorantes sino solamente

una masa corporal significativamente mayor que las del grupo control y del de la propia sacarosa, especialmente para la mezcla de acesulfame y aspartame.

La importancia de estudiar a los genes *SREBP-1* y *ChREBP* es que son conocidos como factores transcripcionales, donde *SREBP-1* es el gen que promueve la transcripción de enzimas lipogénicas y, por ende, un aumento en la producción de triacilglicéridos. Aunque esto también se puede dar con la ayuda de la ingesta de una dieta rica en grasas, en esta investigación las dietas se mantuvieron isoproteicas e isocalóricas. Por otro lado, una dieta rica en glucosa incrementa la actividad del factor transcripcional *ChREBP* que también aumenta la transcripción de enzimas de la lipogénesis, dando como resultado un aumento en la síntesis de lípidos, incrementando el almacenamiento de los triacilglicéridos en el tejido adiposo y produciendo un aumento en el tamaño de los adipocitos, donde este padecimiento es conocido como “hipertrofia”. Aunque en esta investigación solamente el grupo que consumía sacarosa en el agua potable debía haber cabido en la expresión del gen, apareció también la mezcla de acesulfame y aspartame, lo que resulta un hallazgo interesante que debiera ser estudiado a futuro ya que pudiera estar relacionado con el padecimiento de la obesidad y las enfermedades crónicas degenerativas, todas ellas involucradas en el llamado síndrome metabólico.

Los resultados obtenidos de la expresión de estos dos genes con respecto al grupo control, por parte de los tejidos hepáticos de los grupos que consumieron edulcorantes hipoenergéticos, específicamente la mezcla de acesulfame de K y aspartame, para ambos genes a los tres meses, el acesulfame, para el gen *SREBP-1* a los seis meses y para los nueve meses fueron la sucralosa para el gen *SREBP-1* y aspartame para el gen *ChREBP* hacen importante la realización de estudios a futuro en esta dirección. Esto se pudo corroborar con el anexo fotográfico de los sacrificios realizados (Anexo 6), donde estos grupos presentan un gran cúmulo de tejido adiposo con respecto de los grupos control y sacarosa en la zona retroperitoneal. De hecho, esto se había observado ya en el experimento anterior con los grupos de aspartame y sucralosa, que fueron los que se estudiaron primero.

A este respecto sería importante realizar un experimento de corto plazo para evaluar el efecto de los edulcorantes sobre la secreción de incretinas (Flint y col., 1998). Las incretinas son hormonas de origen intestinal que actúan potenciando la secreción de insulina mediada por glucosa después de la ingesta de nutrimentos. Las más importantes en humanos son: *GLP-1* (*glucagon-like-peptide-1*, por sus siglas en inglés) y *GIP* (*glucose-dependent insulinotropic polypeptide*, por sus siglas en inglés). También se secretan en células

neuroendócrinas de la mucosa intestinal. Las concentraciones de *GLP-1* y *GIP* se elevan rápidamente entre 5-15 minutos después de la ingesta y la presencia de nutrientes.

El *GLP-1* es una incretina que actúa como una hormona intestinal y, tanto en personas sanas como en aquellas con diabetes mellitus tipo II, aumenta su secreción tras la ingesta de alimentos y provoca una inmediata respuesta en el páncreas estimulando la secreción de insulina dependiente de glucosa e inhibiendo el glucagon. Además, *GLP-1* estimula la síntesis de insulina ayuda a la reducción de la secreción ácida del estómago y el retardo de su vaciado. También la incretina *GLP-1* es capaz de regular el apetito al inducir la sensación de saciedad mejorando los niveles de glucosa, por lo que al aumentar la concentración de esta incretina es de esperarse que haya un aumento de saciedad y un menor consumo de alimento (De-la-Higuera-López-Frías y col., 2007; Flint y col., 1998).

Sin embargo, no se conoce si a corto plazo el consumo de edulcorantes estimula la producción de *GIP* o *GLP-1*. La estimulación de *GIP* trae como consecuencia que se active el receptor de *GIP* en el tejido adiposo. Altas concentraciones de *GIP* están asociadas con el desarrollo de obesidad y la lipogénesis aumenta (Flatt, 2008).

El propósito de esta investigación sería el de estudiar a corto y a largo plazos los efectos de diferentes edulcorantes por medio de 2 protocolos de investigación usando el mismo modelo de laboratorio, ratas Wistar. En el Protocolo I, a corto plazo, usando ratas macho de 150 g de masa corporal, se estudiaría la estimulación de la secreción de incretinas después del consumo de los edulcorantes naturales y artificiales a evaluar. Los parámetros bioquímicos a medir al finalizar del experimento, además de los péptidos anteriormente expuestos, serían los parámetros bioquímicos: Glucosa, insulina, triglicéridos. Por otro lado, en el Protocolo II, a largo plazo, con ratas macho y hembra recién destetadas, lo que se estudiaría sería el efecto de los diferentes edulcorantes en la expresión de genes involucrados en la lipogénesis como son el *SREBP-1*, *ChREBP* y *FAS* en hígado, páncreas, tejido adiposo y riñón y los efectos de género, ya que se tendrían ratas macho y ratas hembra de la variedad Wistar, llegando hasta el climaterio o incluso más allá (85-87 semanas).

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

“NO PORQUE SEA LIBRE DE ENERGÍA SIGNIFICA QUE ES LIBRE DE CONSECUENCIAS”

6.1. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos y en el objetivo planteado, que era el de comprobar el efecto de la ingesta crónica de edulcorantes energéticos y hipoenergéticos en un animal modelo (ratas macho de la cepa “Wistar”) por medio del estudio del consumo de edulcorantes “*ad libitum*” al adicionarlos al agua para beber y manteniendo la composición de las dietas balanceadas constante y también adicionadas “*ad libitum*” con respecto a la ganancia en masa corporal, puede decirse al respecto de todas las pruebas en conjunto que se cumple la hipótesis planteada al inicio de este experimento, esto es, que existe una relación entre la variabilidad del aumento de masa corporal del modelo animal y el tipo de edulcorante ingerido.

Esto se corrobora con el análisis estadístico, el cual indica que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), obteniendo las mayores masas en los grupos que ingirieron edulcorantes hipoenergéticos siendo la sal de acesulfame de K y aspartame, el aspartame y el acesulfame de K para los 104, 197 y 288 días, respectivamente. De los datos arrojados durante estos experimentos es importante mencionar que los valores más elevados con respecto del lote control son provocados por la ingestión de los edulcorantes hipoenergéticos estudiados, entre los cuales destacan la sal de acesulfame de K y aspartame presentando una ingesta de alimento similar a la del grupo control, pero con una mayor masa corporal, un ligero aumento del colesterol, de la glucosa y de la insulina en suero sanguíneo, así como de la expresión relativa de los genes *SREBP-1* y *ChREBP*.

No solamente en su presentación en forma de mezcla, sino también en su forma individual se pudo constatar esto, ya que para el acesulfame de K se aprecia que los especímenes presentan una mayor masa corporal, un aumento de los triglicéridos así como de la

expresión relativa del gen *SREBP-1*. Para el aspartame se observa también una mayor masa corporal con respecto del control, un aumento de la glucosa y la expresión relativa de genes de *ChREBP*.

Para los otros edulcorantes hipoenérgicos; sacarina y sucralosa, no se encuentran tan alterados los valores ya que son similares a los obtenidos para el grupo control.

Para los edulcorantes enérgicos, siendo los de mayores controversias, se tiene al grupo de la fructosa, edulcorante que da un aporte energético de 3.75 kcal/g, encontrándose una menor ingesta de alimento con respecto del grupo control. Hubo un aumento en la síntesis de colesterol y un crecimiento en los islotes pancreáticos. La sacarosa, siendo el otro edulcorante con mayor controversia, con un aporte energético de 4 kcal/g y culpabilizando a su consumo como el origen de enfermedades como la obesidad y la diabetes mellitus tipos 1 y 2, se encontró que, a pesar tener el mayor consumo de agua endulzada con ella y la segunda mayor ingesta calórica para la primera etapa y la primera para las otras dos, esto no se ve reflejado en el incremento de la masa corporal de los especímenes, sino todo lo contrario, ya que durante todo el experimento (1-288 días) fue prácticamente el grupo con la menor masa corporal.

6.2. RECOMENDACIONES

Con base en los resultados obtenidos puede decirse que se cumplió el objetivo planteado. Los resultados señalan que será interesante realizar estudios posteriores en diferentes etapas de la vida del modelo animal, con objeto de evaluar con mayor precisión el efecto bioquímico de la ingestión crónica de estos edulcorantes, determinando la expresión relativa de los genes ya estudiados, así como los nuevos péptidos *GLP-1* y *GIP*.

Asimismo, debe estudiarse su efecto en ratas, tanto hembras como machos, a largo plazo (85-87 semanas) para constatar si ocurren cambios metabólicos en la llamada tercera edad o de los adultos mayores, que es cuando en los humanos aparecen la diabetes mellitus tipo II y, en general, el síndrome metabólico.

Finalmente, ya terminado este estudio en su totalidad, se buscará dar difusión a los resultados encontrados, tanto ante pares, como ante las autoridades de salud y educación en los niveles más altos, para crear la conciencia de los riesgos asociados a la ingestión crónica de edulcorantes que se dan en la sociedad mexicana desde que los niños son destetados.

ANEXOS

ANEXO 1

CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL MODELO ANIMAL

El espécimen utilizado en esta investigación fue Wistar. Rata blanca común, con cabeza ancha, cola más corta que su cuerpo, de orejas largas y comportamiento dócil (Bustamante y col., 2000):

Género: Rattus

Especie: Norvergicus rattus

Tipo de ciclo estral: Poliéstrico continuo

Duración de estro: 12 horas promedio

Determinación de las fases del ciclo estral: Frotis vaginal

Vida reproductiva hembra: 1 año

Duración del ciclo estral: 4.5 días

Tipo de ovulación: 10 horas después de iniciado el estro

Tiempo de gestación: 20-22 días

Tamaño de la camada: 6-12 animales

Tiempo promedio de vida: 2 años

A.1.1. Datos fisiológicos

Temperatura rectal: 37.5-38.1°C

Frecuencia respiratoria: 83-113 resp/min.

Frecuencia cardíaca: 373-392 puls/min

A.1.2. Valores hematológicos

Glucosa: 50-115 mg/100mL

Hemoglobina: 14.8 mg/100mL

Eritrocitos x 10: 7.2-9.6

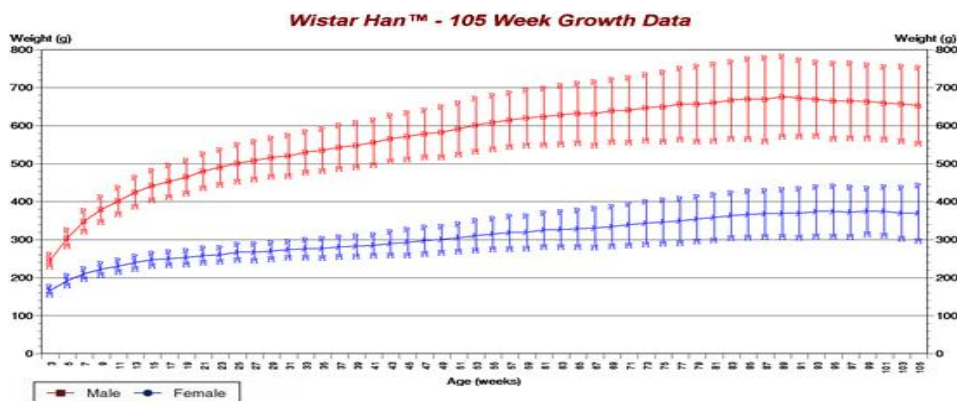
Sodio: 144 mEq/L

Potasio: 5.9 mEq/L

La rata de laboratorio ha tenido un gran auge para estudios biológicos desde hace 80 años, ya que es un animal de comportamiento bien definido, dócil y sumamente inteligente que requiere de poco espacio vital (Bustamante y col., 2000).

A.1.3. Valores de vida media en ratas de laboratorio

La vida media de las ratas Wistar es de 104 semanas (2 años). Las Gráficas A2.3.1 y 2 informan su masa corporal dependiendo del sexo y su ingestión promedio diaria de alimento en gramos.

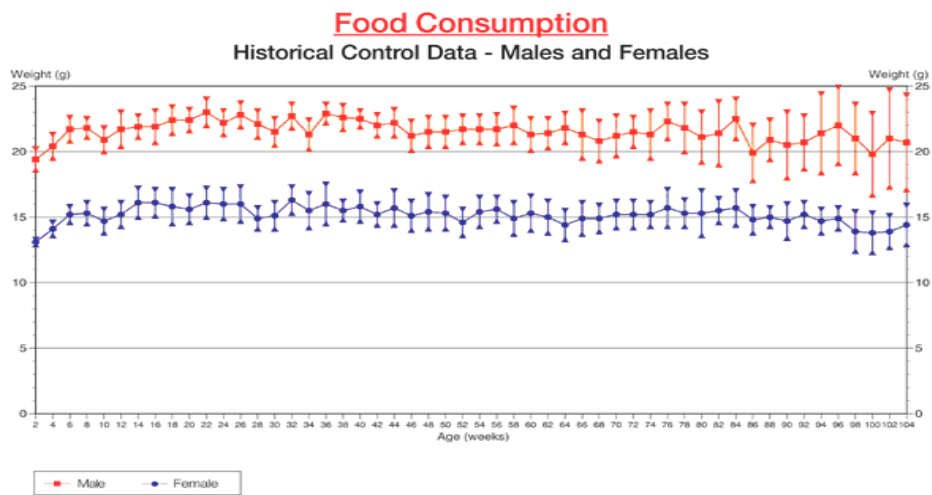


Gráfica A.1. Masa corporal promedio de ratas Wistar machos y hembras a lo largo de 105 semanas (2 años)

INTERVALO DE VIDA ÚTIL DE LAS RATAS

Datos obtenidos directamente de HARLAN y consultados de las redes internacionales (Internet). Consultado el 21 de octubre de 2009

<http://www.harlan.com/models/wistarhan.asp#>



Harlan P.O. Box 29176
Indianapolis, Indiana 46229
Tel.: (317) 894-7521
Fax: (317) 894-1840

Gráfica A.2. Consumo diario promedio de alimento de ratas Wistar machos y hembras a lo largo de 105 semanas (2 años)

Figura A.1.1. Certificados de salud de las ratas otorgados por el Centro Harlan México

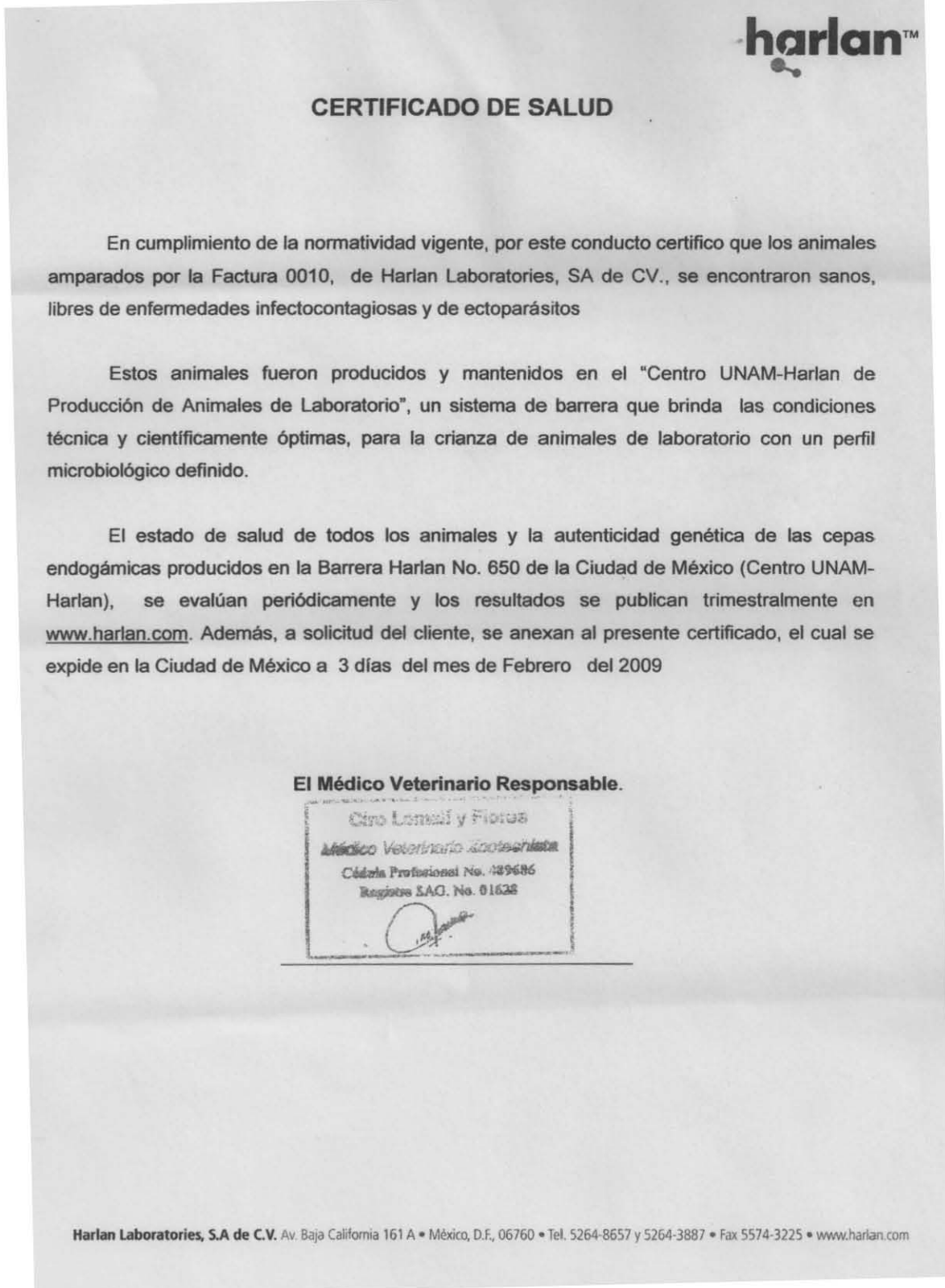

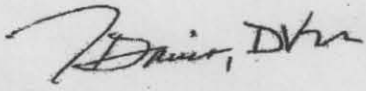


Figura A.1.2. Reporte de seguimiento de salud, Harlan Estados Unidos (EEUU)

		Health Monitoring Report Latest Test Date: June 18, 2008																																																														
Location: Mexico	Barrier: 650	Species: Rat																																																														
Viruses Hantaan Virus Kilham's Rat Virus Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCM) Mouse Adenovirus type 1 (FL) Mouse Adenovirus type 2 (K87) Pneumonia Virus of Mice Rat Minute Virus Rat Parvovirus Rat Theiler Virus Respiratory Enteric Virus III (REO 3) Sendai Virus Sialodacryoadenitis Virus (SDAV)(RCV) Toolan's H-1 Parvovirus	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Test Frequency</th> <th>Quarterly Results</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> </tbody> </table>	Test Frequency	Quarterly Results	Quarterly	0/12	Monthly	0/33	Quarterly	0/12	Quarterly	0/12	Quarterly	0/12	Monthly	0/33	Monthly	0/33	Monthly	0/33	Monthly	0/33	Monthly	0/33	Monthly	0/33	Monthly	0/33	Monthly	0/33	Monthly	0/33	Monthly	0/33	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Test Method</th> <th>Historical Results*</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>MFI</td><td>0/50</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/50</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/50</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/50</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/92</td></tr> </tbody> </table>	Test Method	Historical Results*	MFI	0/50	MFI	0/92	MFI	0/50	MFI	0/50	MFI	0/50	MFI	0/92	MFI	0/92	MFI	0/92	MFI	0/92	MFI	0/92	MFI	0/92	MFI	0/92	MFI	0/92	MFI	0/92
Test Frequency	Quarterly Results																																																															
Quarterly	0/12																																																															
Monthly	0/33																																																															
Quarterly	0/12																																																															
Quarterly	0/12																																																															
Quarterly	0/12																																																															
Monthly	0/33																																																															
Monthly	0/33																																																															
Monthly	0/33																																																															
Monthly	0/33																																																															
Monthly	0/33																																																															
Monthly	0/33																																																															
Monthly	0/33																																																															
Monthly	0/33																																																															
Monthly	0/33																																																															
Monthly	0/33																																																															
Test Method	Historical Results*																																																															
MFI	0/50																																																															
MFI	0/92																																																															
MFI	0/50																																																															
MFI	0/50																																																															
MFI	0/50																																																															
MFI	0/92																																																															
MFI	0/92																																																															
MFI	0/92																																																															
MFI	0/92																																																															
MFI	0/92																																																															
MFI	0/92																																																															
MFI	0/92																																																															
MFI	0/92																																																															
MFI	0/92																																																															
Bacteria, Mycoplasma and Fungi CAR Bacillus Citrobacter rodentium Clostridium piliforme Corynebacterium kutscheri Dermatophytes Helicobacter bilis Helicobacter hepaticus Helicobacter spp Mycoplasma pulmonis Pasteurella pneumotropica Salmonella spp Streptobacillus moniliformis Streptococcus pneumoniae	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tbody> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> <tr><td>Annually</td><td>0/6</td></tr> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/33</td></tr> </tbody> </table>	Quarterly	0/12	Quarterly	0/12	Monthly	0/33	Quarterly	0/12	Annually	0/6	Quarterly	0/12	Quarterly	0/12	Quarterly	0/12	Monthly	0/33	Monthly	0/33	Monthly	0/33	Quarterly	0/12	Monthly	0/33	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tbody> <tr><td>MFI</td><td>0/50</td></tr> <tr><td>Culture</td><td>0/50</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>Culture</td><td>0/50</td></tr> <tr><td>Culture</td><td>0/22</td></tr> <tr><td>PCR</td><td>0/50</td></tr> <tr><td>PCR</td><td>0/50</td></tr> <tr><td>PCR</td><td>0/50</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>Culture</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>Culture</td><td>0/92</td></tr> <tr><td>PCR</td><td>0/50</td></tr> <tr><td>Culture</td><td>0/92</td></tr> </tbody> </table>	MFI	0/50	Culture	0/50	MFI	0/92	Culture	0/50	Culture	0/22	PCR	0/50	PCR	0/50	PCR	0/50	MFI	0/92	Culture	0/92	Culture	0/92	PCR	0/50	Culture	0/92										
Quarterly	0/12																																																															
Quarterly	0/12																																																															
Monthly	0/33																																																															
Quarterly	0/12																																																															
Annually	0/6																																																															
Quarterly	0/12																																																															
Quarterly	0/12																																																															
Quarterly	0/12																																																															
Monthly	0/33																																																															
Monthly	0/33																																																															
Monthly	0/33																																																															
Quarterly	0/12																																																															
Monthly	0/33																																																															
MFI	0/50																																																															
Culture	0/50																																																															
MFI	0/92																																																															
Culture	0/50																																																															
Culture	0/22																																																															
PCR	0/50																																																															
PCR	0/50																																																															
PCR	0/50																																																															
MFI	0/92																																																															
Culture	0/92																																																															
Culture	0/92																																																															
PCR	0/50																																																															
Culture	0/92																																																															
Parasites Ectoparasites Endoparasites Enteric Protozoan Encephalitozoon cuniculi	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tbody> <tr><td>Monthly</td><td>0/36</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/36</td></tr> <tr><td>Monthly</td><td>0/36</td></tr> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> </tbody> </table>	Monthly	0/36	Monthly	0/36	Monthly	0/36	Quarterly	0/12	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tbody> <tr><td>Microscopy</td><td>0/105</td></tr> <tr><td>Microscopy</td><td>0/105</td></tr> <tr><td>Microscopy</td><td>0/105</td></tr> <tr><td>MFI</td><td>0/50</td></tr> </tbody> </table>	Microscopy	0/105	Microscopy	0/105	Microscopy	0/105	MFI	0/50																																														
Monthly	0/36																																																															
Monthly	0/36																																																															
Monthly	0/36																																																															
Quarterly	0/12																																																															
Microscopy	0/105																																																															
Microscopy	0/105																																																															
Microscopy	0/105																																																															
MFI	0/50																																																															
Pathological Lesions Gross Exam Histopathology - Lungs ^A	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tbody> <tr><td>Monthly</td><td>0/36</td></tr> <tr><td>Quarterly</td><td>0/12</td></tr> </tbody> </table>	Monthly	0/36	Quarterly	0/12	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tbody> <tr><td>Pathology</td><td>0/105</td></tr> <tr><td>Pathology</td><td>0/50</td></tr> </tbody> </table>	Pathology	0/105	Pathology	0/50																																																						
Monthly	0/36																																																															
Quarterly	0/12																																																															
Pathology	0/105																																																															
Pathology	0/50																																																															

Testing Laboratory: RADIL
 Report Released: August 11, 2008
 Date Barrier Populated: 2001
 Species Within Barrier: Mouse, Rat
 Report Notes: Data are expressed as number positive/number tested.
 Testing intervals are reported per room; however, barriers with multiple rooms have more frequent testing intervals.
 *Historical results include 18 months cumulative data.
^AResults do not include strain related or incidental findings.

Outbred
 Hsd:Sprague Dawley[®]™SD[®]™
 Hsd:WI



Thomas W. Davis, DVM

ANEXO 2

DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

A.2.1. DETERMINACIÓN DE COLESTEROL (Anónimo, 2009a)

El colesterol es un lípido de naturaleza esteroide presente en las células de los tejidos animales. Es un compuesto de carácter hidrofóbico y, por consiguiente, poco soluble en medios acuosos como el plasma. Se puede encontrar libre o esterificado con ácidos grasos y ambas formas circulan en la sangre unidas a diversas proteínas, constituyendo las lipoproteínas plasmáticas.

La determinación de la concentración plasmática de colesterol tiene gran interés clínico, pues está demostrada la relación entre los niveles altos de colesterol y la incidencia de aterosclerosis, cardiopatía isquémica y otras enfermedades. El riesgo cardiovascular comienza a ser valorable cuando el colesterol total excede los 200 mg/dL (0.52 mM) aproximadamente.

Los primeros métodos para la determinación del colesterol se basaban en la formación de compuestos coloreados mediante reacciones químicas del colesterol. No obstante, debido a los líquidos corrosivos que utilizan, estos métodos actualmente no se suelen emplear para los análisis de rutina, habida cuenta de que se han desarrollado métodos enzimáticos, igualmente específicos, de fácil manejo y de gran sensibilidad.

En estos métodos enzimáticos, la primera reacción consiste en la hidrólisis de los ésteres de colesterol por acción de esterasas bacterianas, inespecíficas con respecto al ácido graso esterificado; a continuación, se produce la oxidación del colesterol (el formado en la reacción anterior y el preexistente, o colesterol libre en plasma) por una colesterol oxidasa, produciéndose H_2O_2 , el cual con la participación de peroxidasa da lugar a la formación de un compuesto coloreado. Un esquema de las reacciones acopladas puede ser el señalado en la Fig. A.2.1.

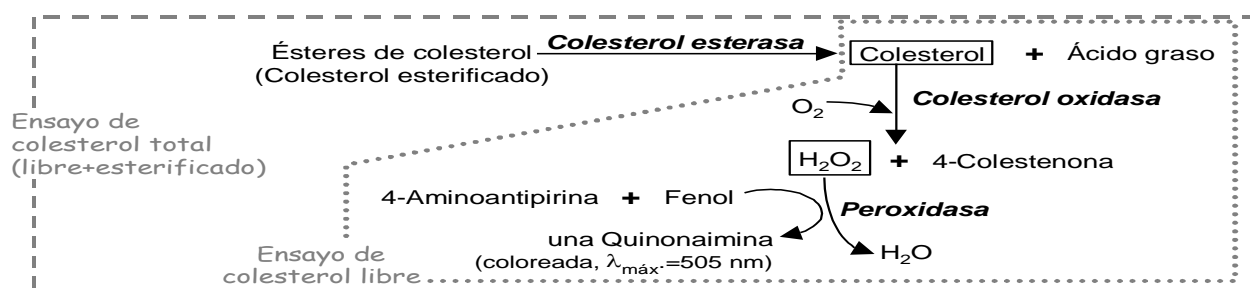


Figura A.2.1. Reacciones acopladas para la cuantificación de colesterol (tomada de Pérez-Rico y Reyes-Díaz, 2010)

PRECIPITANTE DEL *HD-COLESTEROL*

USO

Para la determinación cuantitativa de lipoproteínas de alta densidad (*HDL*) colesterol en suero.

HISTORIA DEL MÉTODO

Los primeros métodos para la determinación de *HDL* Colesterol incluyen ultracentrifugación. Aunque este método ha pasado por algunas modificaciones y se considera como un método de referencia, sigue siendo un procedimiento tedioso y que lleva mucho tiempo y equipo costoso, además de personal bien entrenado. La electroforesis ha sido utilizada para las pruebas cualitativas de las lipoproteínas pero no ha sido usada como herramienta cuantitativa por los problemas en precisión y estandarización que presenta.

Los métodos de separación más recientes incluyen el uso de polianiones y cationes divalentes para precipitar las lipoproteínas dejando el *HDL* en el sobrenadante. Algunos de los reactivos usados incluyen heparin-MN, fosfotungstato de magnesio, sodio, dextrasulfato y otros.

PRINCIPIO

Cuando se combina el suero con el reactivo de polietilenglicol, todas las proteínas beta (*LDH* y *VLDL*) se precipitan. La fracción *HDL* (fracción alfa) se queda como sobrenadante, se trata como muestra y se le practica la prueba de colesterol empleando un método enzimático. El valor es el correspondiente al *HDL Colesterol*.

REACTIVOS

HDL-Colesterol reactivo precipitante 20 % polietilenglicol en solución amortiguadora de glicina a pH 10.0 (25°C.)

MATERIALES

Reactivo precipitante de *HD-colesterol*

PROCEDIMIENTO

1. Separación del *HD-colesterol*

- Etiquete tubos para control y “pacientes”
- Tomar 0.5 mL (500 µL) de muestra en los tubos
- Tomar 0.5 mL (500 µL) de reactivo precipitante en cada tubo usando un “vórtex”
- Centrifugue a 1000-2000 rpm por 10 minutos

2. Determinación del *HDL-colesterol*

- Etiquete blanco, estándar, controles y “pacientes”
- Tomar 1.0 del reactivo enzimático de colesterol preparado de acuerdo con el instructivo del paquete en cada tubo
- Tomar 0.05 mL (50 µL) de estándar o sobrenadante del paso # 4 a los tubos respectivos
- Incube todos los tubos 10 minutos a 37°C
- Ponga en cero el equipo a 520 nm con blanco de reactivo
- Lea la absorción de todos los tubos a 520 nm
- Para obtener los valores en mg/dL vea cálculos

NOTAS DE PROCESO

Los resultados finales del *HDL* deben multiplicarse por dos para compensar la dilución 1:1 con el reactivo precipitante. El volumen de la muestra y el reactivo precipitante puede variar si se mantiene la dilución 1:1 (por ej., 0.2 mL c. u.).

CÁLCULOS

$$\frac{\text{Colesterol HDL } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right) - \text{Abs muestra} \times \text{Concentración del reactivo enzimático} \times 2}{\text{Abs Estándar}}$$

donde el número 2 es el factor de dilución

A.2.2. DETERMINACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS (Anónimo 2009b)

RELEVANCIA CLÍNICA

Los triglicéridos son una familia de lípidos absorbidos desde la dieta y producidos de forma endógena a partir de los hidratos de carbono. La medición de los triglicéridos resulta importante en el diagnóstico y en la gestión de las hiperlipidemias. Estas enfermedades

pueden ser genéticas o secundarias a otros trastornos que incluyen nefrosis, diabetes mellitus, y molestias endocrinas.

El aumento de los triglicéridos se ha identificado como un factor de riesgo para la enfermedad aterosclerótica. La Fig. A3.2 presenta las reacciones que ocurren durante su cuantificación.



Figura A.2.2. Reacciones acopladas para la cuantificación de triglicéridos

1. Los triglicéridos se hidrolizan enzimáticamente por acción de la lipasa para producir ácidos grasos libres y glicerol.
2. El glicerol se fosforila por acción del adenosin trifosfato (ATP) con la glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato y adenosin difosfato.
3. El glicerol-3-fosfato se oxida a dihidroxiacetona fosfato (DAP) por acción de la glicerol fosfato oxidasa, produciendo peróxido de hidrógeno (H_2O_2).
4. En una reacción de color por la peroxidasa, el H_2O_2 reacciona con 4-aminoantipirina (4-AAP) y sulfonato de 3,5-dicloro-2-hidroxibenceno (DHBS) para producir un tinte de color rojo. La absorbancia de este tinte es proporcional a la concentración de los triglicéridos presentes en la muestra.

REACTIVO DE TRIGLICÉRIDOS

USO

Para determinación cuantitativa de triglicéridos en suero.

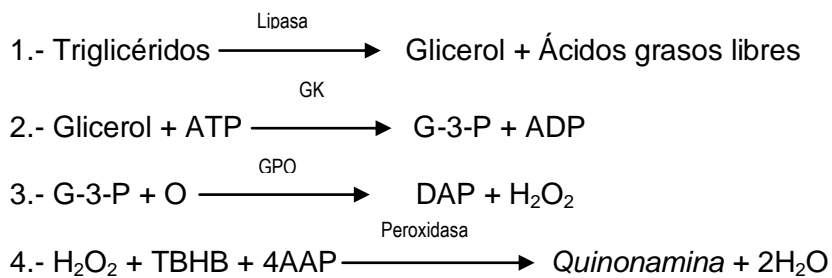
HISTORIA DEL MÉTODO

Los triglicéridos se determinan comúnmente por métodos que liberan glicerol ya sea por hidrólisis enzimática o por un álcali con la combinación enzimática de lipasa. Se hidrolizan los triglicéridos usando la combinación de enzima proteolítica y lipasa. El presente

procedimiento usa este principio y mide la liberación de glicerol completando la reacción enzimática.

El método presente utiliza una modificación del método denominado "trinder" para producir una reacción lineal rápida de punto final.

PRINCIPIO



El triglicérido en la muestra se hidroliza por la lipasa a glicerol y ácidos grasos. Después el glicerol es fosforilado por la adenosin 5 trifosfato (ATP) a glicerol 3 fosfato (G-3-P) y adenosin 5 difosfato en la reacción catalizada por la glicerolquinasa (GK). El glicerol 3 fosfato es convertido a dihidroxiacetona fosfato (GPO). El peróxido de hidrógeno reacciona con 4 aminoantipirina (4AAP) y con el ácido 3 hidroxil 2, 4, 6 tribio benzoico (TBHB) en una reacción catalizada por la peroxidasa resultando un tinte color rojo quinonamina. La intensidad del color producido es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos en la muestra medida a 540 nm.

REACTIVOS

La concentración se refiere al reactivo reconstituido.

1.- Reactivo triglicérido: ATP 1.0 mM, sal de magnesio >5.0mM, TBHB 2.0 mM, GPO > 2,000 µL/L, lipasa>200,000 µL/L, GK 6,000 µL/L, peroxidasa >500 µL/L, solución amortiguadora de surfactante, estabilizadores y azida de sodio 0.1%.

PRECAUCIÓN

1.- El reactivo contiene azida de sodio como preservativo. Ésta puede reaccionar con el cobre o formar compuestos explosivos en las tuberías. Después de usarse lave con suficiente agua.

2.- Para diagnóstico "in vitro" solamente.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reconstituya como está indicado en la etiqueta con agua destilada y disuelva suavemente.

PROCEDIMIENTO MANUAL

- 1.- Prepare el reactivo de acuerdo con las instrucciones del vial.
- 2.- Etiquete los tubos (blanco, estándar, paciente, control).
- 3.- Tomar 1.0 mL de reactivo en los tubos.
- 4.- Incube a 37°C por cinco minutos.
- 5.- Agregue 0.01 mL a 10 µL de muestra y mezcle.
- 6.- Incube 5 minutos a 37°C.
- 7.- Ponga en ceros el espectrofotómetro a 540 nm con un blanco de reactivo
- 8.- Lea y anote las absorbancias de los tubos.

NOTAS

- 1.- El color final es estable por 30 minutos
- 2.- Las muestras con valores de 1000 mg/dL se diluyen 1:1 con agua y se multiplica el resultado por dos

CÁLCULOS

Abs = Absorbancia

$$\frac{\text{Abs espécimen}}{\text{Abs STD}} \times \text{Conc de STD} = \text{Conc de espécimen} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right)$$

Ejemplo

Absorbancia muestra = 0.300

Absorbancia estándar = 0.200

Concentración del estándar = 300 mg/dL

$$\frac{0.300 \times 300 \text{ mg} / \text{dL}}{0.200} = 450 \text{ mg} / \text{dL}$$

A.2.3. DETERMINACIÓN DE GLUCOSA EN SUERO (Anónimo 2009c).

Fundamento

La glucosa es un monosacárido que se utiliza como fuente principal de energía en el organismo. La glucosa presente en sangre proviene de distintas fuentes, entre ellas:

- Como producto de la conversión por actividad enzimática en el aparato digestivo de los hidratos de carbono ingeridos.
- Por conversión metabólica de sustancias diferentes a los hidratos de carbono en el hígado y riñón.
- Por degradación de glucógeno hepático (forma de almacenamiento de glucosa).
- La ingestión de alimentos, hace que aumente moderadamente la glucemia, lo que desencadena la secreción de insulina por parte del páncreas. En el hígado, la insulina incrementa la conversión de glucosa en glucógeno (glucogénesis).

En respuesta a una disminución de los niveles de hidratos de carbono en sangre en el ayuno, la insulina disminuye y el glucagón aumenta, éste estimula la liberación de glucosa de las reservas en forma de glucógeno en el hígado (glucogenólisis), estimula el catabolismo de las grasas y proteínas dando lugar a la formación de glucosa en hígado y riñones (gluconeogénesis) lo que le permite al organismo obtener energía.

La cuantificación de glucosa sanguínea en un sujeto después de un ayuno de 12 a 14 horas, es menos precisa que la medición postprandial, pero suele utilizarse para identificar inicialmente al paciente diabético.

La cuantificación de glucosa sanguínea es de utilidad en la detección de estados hiperglicémicos, y en el control de la diabetes mellitus. Es útil también en el estudio de las pancreatitis agudas, carcinomas pancreáticos, meningitis y en algunos casos de envenenamientos por monóxido de carbono (CO).

Existen varios métodos para la cuantificación de glucosa en sangre, con diferente especificidad, como pueden ser:

- Método de orto-toluidina
- Método enzimático de punto final: Oxidasa
- Método enzimático cinético: Hexoquinasa

En el método de la glucosa oxidasa, la glucosa es oxidada por la enzima glucosa oxidasa (GOD) liberando peróxido de hidrógeno (H₂O₂); éste reacciona con fenol y 4-aminofenazona en presencia de peroxidasa (POD), dando un color rojo violeta de antipirilquinonimina en cantidad proporcional a la glucosa presente en la muestra. La Fig. A3.3 presenta las reacciones químicas que ocurren en la cuantificación.

Reacción química

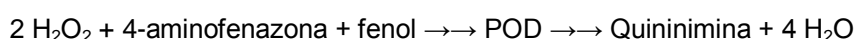


Figura A3.3 Reacciones acopladas para la cuantificación de glucosa

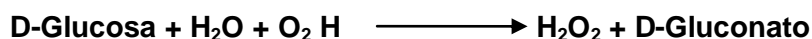
USO

Para la determinación cuantitativa de glucosa en suero

HISTORIA DEL MÉTODO

Los primeros métodos para la determinación de glucosa usaron glucosa oxidasa para catalizar la oxidación de glucosa a peróxido de hidrogeno y ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno que se forma se mide por la oxidación de un cromógeno. Se han investigado muchos cromógenos pero muchos han sido descartados por la posible carcinogenicidad, toxicidad, inestabilidad o porque muchas sustancias interferían con ellos. Se desarrolló un sistema de peroxidasa fenolaminofenazona eficiente para la cuantificación de peróxido de hidrógeno con la formación de un color rojo de quinoneimina. Este método está menos influenciado por sustancias y no tiene tantas desventajas como los otros métodos. Este método se basa en una modificación del anterior, pero utiliza una sustancia sustituta del fenol no corrosiva.

PRINCIPIO



CONTENIDO DEL REACTIVO

Reactivo de glucosa: glucosa oxidasa > 15 μL /mL, Peroxidasa 1.2 μL /mL , 4-Amino antipirina + 0.38 mM, solución amortiguadora de fosfato, pH 7.5 ± 0.1 , P-hidroxibenzoato de sodio 10 mM, estabilizadores no reactivos y azida de sodio 0.1%.

PRECAUCIÓN

Para diagnóstico "in vitro" únicamente. Este reactivo contiene azida de sodio 0.1%. Puede reaccionar con cobre o con metales para formar explosivos. Lave con agua abundante.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Vacíe el contenido del vial en el volumen del agua destilada indicado en la etiqueta, disuelva lentamente y almacene en un frasco ámbar, 2-8°C

PROCEDIMIENTO MANUAL

- 1) Prepare el reactivo de trabajo de acuerdo con las instrucciones.
- 2) Etiquete los tubos blanco, estándar, control, etc.
- 3) Tome 1.0 mL de reactivo de trabajo en todos los tubos y colóquelos en un baño maría a 37°C por 5 minutos.
- 4) Agregue 0.01mL (10 μL) de muestra a los tubos respectivos, mezcle e incube a 37°C por 5 minutos.
- 5) Después de incubar ponga en ceros el espectro con el blanco de reactivo. Lea la absorbancia de los tubos de 500-520 nm
- 6) Vea cálculos.

NOTAS DEL PROCESO

- 1) El color final es estable por 15 minutos.
- 2) Si el espectrofotómetro requiere un volumen de más de 1 mL, utilice 0.02 mL (2 μL) de muestra y 3.0 mL de reactivo.

CÁLCULOS

Abs (Absorción)

$$\frac{\text{Abs espécimen}}{\text{Abs STD}} \times \text{Conc de STD} = \text{Glucosa} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right)$$

A.2.4. INSULINA (Flores-Jiménez, 2012., Millipore, 2012)

FUNDAMENTO

La insulina es una hormona peptídica con una masa molecular de aproximadamente 6000 daltons secretada por las células beta del páncreas. Se incorpora a la circulación sanguínea pasando por el sistema portahipofisario y el hígado.

La liberación de insulina tiene lugar regularmente de forma pulsátil y está precedida en aproximadamente. 2 minutos por el ciclo correlativo de la glucosa.

La molécula está compuesta por dos cadenas polipeptídicas: la cadena a de 21 aminoácidos y la cadena b de 30. La biosíntesis de la hormona tiene lugar en las células beta de los islotes de Langerhans en forma de pre-proinsulina monocatenaria que se desdobra inmediatamente a proinsulina.

La proinsulina se desdobra por acción de proteinasas específicas a insulina y un péptido C, que se incorporan simultáneamente al caudal sanguíneo. Al hacerlo, aproximadamente la mitad de la insulina sintetizada y una cantidad ínfima de péptido C son retenidas en el hígado.

La insulina circulante se degrada principalmente en el hígado con una vida media biológica de 3 a 5 minutos, mientras que la inactivación o eliminación de proinsulina y péptido C tienen lugar preferentemente en los riñones.

La acción de la insulina se transmite por receptores específicos y consiste en primer lugar en facilitar la absorción de glúcidos por las células hepáticas, las del tejido adiposo y las de la musculatura, lo cual constituye la base de su efecto reductor de la glucemia.

La determinación de insulina en suero se aplica principalmente en pacientes que presentan una sintomatología de hipoglucemia con el objeto de averiguar el cociente glucosa/insulina así como para aclarar cuestiones concernientes a la secreción de insulina, como p. ej. en el test de tolbutamida o la prueba de glucagón, o bien para evaluar pruebas orales de tolerancia de glucosa o de provocación de hambre.

Un trastorno en el metabolismo de la insulina influye masivamente en numerosos procesos metabólicos.

Si la concentración de insulina libre biológicamente activa fuera demasiado pequeña, se puede desarrollar diabetes mellitus.

Sus causas pueden ser, por ejemplo, la destrucción de las células b (tipo I), una disminución en la efectividad de la insulina o en la capacidad de síntesis del páncreas (tipo II), la existencia de anticuerpos antiinsulina circulantes, la liberación retardada de la insulina o bien la carencia o insuficiencia de receptores de insulina.

Por otra parte, la hipoglucemia se debe frecuentemente a una secreción de insulina autónoma e irregular. Este estado se produce por la inhibición de la gluconeogénesis, por ejemplo como consecuencia de una insuficiencia hepática o renal grave, de un adenoma insular o de un carcinoma.

La hipoglucemia también puede provocarse consciente o inconscientemente (*hipoglucemia ficticia*).

En radioinmunoanálisis, una concentración fija de antígeno etiquetado del trazalíneas se incuba con una dilución constante del antisuero tal que la concentración de puntos de enlace del antígeno en el anticuerpo es limitada, por ejemplo, sólo el 50% de la concentración total del trazalíneas se pueden limitar por el anticuerpo.

Si el antígeno sin etiqueta se agrega a este sistema, hay competencia entre el trazalíneas etiquetado y el antígeno sin etiqueta para el número limitado y constante de puntos de enlace en el anticuerpo.

Así, la cantidad límite del trazalíneas unido al anticuerpo disminuirá conforme la concentración de antígeno sin etiqueta aumenta.

Esto se puede medir después de separar anticuerpo-limitante de trazalíneas libre y de contar uno o el otro, o ambas fracciones.

Una curva estándar se fija con el aumento de concentraciones de antígeno sin etiqueta estándar y de esta curva se puede calcular la cantidad de antígeno en muestras desconocidas.

Así, las cuatro necesidades básicas para un sistema del radioinmunoanálisis son: un antisuero específico al antígeno que se medirá, la disponibilidad de una forma etiquetada radiactiva del antígeno, un método por el que anticuerpo-limitante del trazalíneas se pueda separar del trazalíneas desligado y, finalmente, un instrumento para contar radiactividad.

El análisis de la insulina de la rata con el método del Millipore utiliza 125 μ g de insulina etiquetada y un antisuero de la insulina de la rata para determinar el nivel de insulina de la rata en medios de cultivo del suero, del plasma o del tejido por la técnica doble de *antibody/PEG*.

Para la realización de esta prueba se contó con un kit llamado RAT INSULIN RIA KIT (No. de Cat. # RI-13K) de la empresa Millipore®. A continuación se detalla su empleo:

Día uno del ensayo

A) Preparación de la curva estándar:

- Se marcaron 6 tubos (1, 2, 3, 4, 5 y 6) y se añadieron 1.0 mL de solución amortiguadora (*buffer* en inglés) de ensayo a cada uno de los 6 tubos.
- Se prepararon diluciones seriadas por la adición de 1.0 mL del estándar de 10 ng/mL a el tubo 1, se mezcló bien y se transfirió 1 mL del tubo 1 al tubo 2, y así sucesivamente hasta llegar al tubo 6.
- Se pipetearon 200 μ L de *buffer* de ensayo a los tubos de enlace no específico (NBS) (tubos 3 y 4) y 100 μ L a la referencia (tubos 5 y 6).

B) Preparación de los estándares, controles de calidad y muestras:

- Se pipetearon por duplicado: 100 µL de estándar, controles de calidad y de cada muestra; 100 µL de ^{125}I –Insulina hidratada a todos los tubos; 100 µL de anticuerpo de insulina de rata a todos los tubos excepto a los tubos de cuenta total (1 y 2) y a los tubos NBS (tubos 3 y 4).
- Por último, se agitaron todos los tubos en un equipo “vórtex” a 3200 rpm, se cubrió e incubó durante una noche (20-24 horas) a 4°C.

Día dos del ensayo

1. Se añadió 1.0 mL del agente precipitante frío (4°C) a todos los tubos excepto a los tubos de cuenta total (1 y 2). Se agitaron en un “vórtex” y se incubaron 20 minutos a 4°C.
2. Se centrifugaron a 4°C, todos los tubos excepto los tubos de cuenta total (1 y 2) durante 20 minutos a 2,000-3,000 xg.
3. Se decantó el sobrenadante de todos los tubos excepto a los tubos de cuenta total (1-2). Se escurrieron los tubos por al menos 15-60 segundos. Se midieron todos los tubos en un contador de rayos gamma por 1 minuto.

ANEXO 3

Reacción en cadena de la polimerasa (*PCR*, en inglés) (Vinueza-Burgos, 2009)

Es una técnica ideada por Kary Mullis en 1983. Se basa en el hecho de que si se conoce al menos la secuencia de las partes flanqueantes del segmento de ADN (*DNA*, en inglés) que se desea clonar, el número de copias de este segmento de ADN puede amplificarse enormemente con la reacción en cadena de la polimerasa (*PCR*). El ADN amplificado puede ser clonado directamente o usado en una amplia variedad de procedimientos analíticos.

En todos los organismos vivos las células regulan sus actividades mediante la activación o desactivación de la expresión de sus genes. La expresión genética es generalmente proporcional al número de copias de ARN mensajero (ARNm) de un gen determinado. Éste trata de identificar la presencia de productos celulares específicos ya que el ARNm es traducido en los ribosomas para formar proteínas. Por lo tanto, es posible obtener datos relativos a la producción de elementos biológicos si la expresión de los genes de una célula es conocida (Vinueza-Burgos, 2009).

La técnica de *PCR* en tiempo real, también llamada *PCR* cuantitativa en tiempo real, se basada en la reacción en cadena de polimerasa (*PCR*) y se usa para amplificar y al mismo tiempo cuantificar moléculas de ADN o ADN complementario (ADNc) específicas y así acceder a datos fiables y precisos sobre la expresión genética de las células en estudio (Vinueza-Burgos, 2009).

La *PCR* en tiempo real puede generar ampliaciones muy pequeños (desde 60 pb) lo que la hace ideal para la detección de cambios cuantitativos en la expresión génica durante el curso de alteraciones celulares patológicas o experimentales, así como para la cuantificación de niveles de ARNm en muestras de tejidos con ARN parcialmente degradado.

Una característica importante de la determinación de la *PCR* en tiempo real es su amplio rango dinámico, esto implica que una amplia gama de relaciones en los genes a estudiarse y en los genes normalizadores puede analizarse con similar sensibilidad y especificidad.

En esta prueba el producto de la *PCR* se mide al final de cada ciclo, los datos pueden ser analizados mediante un software informático y el número de copias de ARNm o la expresión génica relativa entre varias muestras puede calcularse.

A.3.1. Transcripción reversa en la *PCR* en tiempo real

Una limitación de la *PCR* en tiempo real es que se debe utilizar ADN como secuencia diana, ya que las ADN polimerasas no pueden amplificar ARN de una manera similar, este problema se puede superar mediante el uso de la enzima transcriptasa inversa para generar ADNc a partir de una plantilla de ARN. Por esta razón la *PCR* en tiempo real con transcriptasa inversa (*RT-PCR* en tiempo real) que es la que se utilizó en este experimento ya que es el método de elección para realizar un examen rápido y cuantitativo de la expresión de genes específicos. Es importante mencionar que dado que la *PCR* en tiempo real y la transcripción reversa se utilizan en combinación, la señal final obtenida en *RT-PCR* en tiempo real dependerá de la eficiencia de la reacción de la transcriptasa inversa (Bustin, 2002).

Una de las más importantes ventajas de la *PCR* en tiempo real es que el proceso completo se realiza en el termociclador, pues ayuda a disminuir el riesgo de posterior contaminación en el laboratorio y permite aumentar el rendimiento de la prueba en tiempo real.

Existen marcadores que se utilizan en la detección genérica y que se basan en la utilización de colorantes que se unen a todas las secuencias de doble cadena de ADN en una reacción usando la *PCR*.

Una vez que el colorante se une al ácido nucleico formado en la reacción, éste emite una señal fluorescente que se procesa en tiempo real. Por lo tanto, un aumento del producto de la *PCR* conduce a un aumento de la fluorescencia detectada en cada ciclo de la *PCR*, permite que las concentraciones de ADN o ADNc puedan ser cuantificadas (Bustin, 2002).

Se han descrito varios de estos marcadores pero los más utilizados son los colorantes SYBR Green y SYBR. Estos marcadores son populares para su uso en la *PCR* en tiempo real porque no sólo son más baratos sino que también son distribuidos por los proveedores de reactivos listos para usar y no requieren un diseño experimental adicional. La limitación de estos marcadores es que al unirse al total de ácidos nucleicos en la reacción de la *PCR*, emiten una señal luminosa tanto para productos específicos como para aquellos que no lo son (*primer-dimers* en inglés). Para hacer frente a esta situación se debe realizar un análisis

de los resultados en la curva de fusión; el análisis permite que los productos no específicos puedan ser discriminados de las “amplicones” específicos (Bustin 2002).

Para discriminar los productos específicos de la PCR es necesario saber que estos se disocian a una temperatura más alta que los *primers-dimers* (Vinueza-Burgos, 2009).

Una ventaja adicional de esta técnica es que para implementarla es suficiente contar con una cantidad pequeña de muestra, ya que es ideal cuando se usa conjuntamente con microcirugía laser para hacer biopsias de tejidos o células específicas o el comportamiento de células cancerosas.

El procedimiento de la PCR consta de tres pasos que se explicarán a continuación:

1. Se separan las cadenas de ADN por calentamiento
2. Se hibridan con un exceso de cebadores de ADN sintético corte, que flanquean la región que se desea amplificar.
3. El ADN nuevo se sintetiza por polimerización.

Los tres pasos anteriores se repiten unos 25 0 30 ciclos.

A.3.2. ARN MENSAJERO (Vinueza-Burgos, 2009)

El ARN es el segundo tipo de ácido nucleico de la célula, el cual desempeña muchas funciones, en la expresión genética actúa como intermediario en la conversión de la información codificada en el ADN en la secuencia de aminoácidos de las proteínas funcionales. Una molécula distinta del ADN debe transportar el mensaje genético necesario para la síntesis de proteínas desde el núcleo hasta el citoplasma, y como se encuentra en estos dos y el aumento de síntesis proteica está acompañado de un aumento de la cantidad de ARN en el citoplasma y de un aumento de su velocidad de recambio, en 1961 Jacob y Monod propusieron el ARN mensajero (mARN) para la porción de ARN celular total que traslada la información genética desde el ADN a los ribosomas, donde los mensajeros actúan como molde para especificar las secuencias de aminoácidos de las cadenas polipeptídicas. El proceso de formación del mARN sobre un molde de ADN se conoce como transcripción.

PROCEDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN DE ARN CON TIOCIANATO DE GUANIDINA Y CLORURO DE CESIO (Torres-y-Torres y Tovar-Palacio, 2010)

Día 1

- Limpiar el área de trabajo con etanol y dietilpolicarbonato o pirocarbonato de dietilo (*DEPC* en inglés)
- Encender las centrifugas y ajustarlas: centrífuga: Rotor JA-20, 25 min, 18°C, 14000 rpm. Ultracentrífuga: rotor SW-40Ti no. Serie 10814 (rotor 9 de la lista), 18 hora, 18°C, 29000 rpm
- Colocar 6 camisas delgadas en el rotor de la centrífuga
- Colocar en una gradilla 40 tubos tipo falcón
- Añadir a cada uno 4.5 mL de agua con *DEPC* con una piseta
- Colocar en una gradilla 6 tubos "corex" de 30 mL, de las tapas de aluminio 3 se conservan y 3 se parten en dos para tapar los tubos después
- Colocar 8 mL de tiocianato de guanidina en cada tubo con una pipeta desechable
- La lata del β mercaptoetanol se abre con una toallita de papel en campana, agregando 56 μ L a cada tubo. La punta de la pipeta se tira en la bolsa roja de residuos especiales.
- Se tapan los tubos con papel aluminio y se dejan en la campana mientras se saca todo lo demás
- Se enjuagan las pinzas con *DEPC*
- Se ajusta el politrón en 3, siempre que se enciende debe tener un tubo con agua
- Se lava 6 veces con los tubos "falcón"
- Se sacan del ultracongelador los tejidos, uno por uno, según se vayan usando
- Se deposita el tejido congelado (\pm 500 mg) en un tubo "corex" con tiocianato y se homogeneiza con el "politrón"
- Se lava el "politrón" 6 veces, se limpia con una toalla de papel observando que no tenga residuos de tejido y se lava una vez más
- Agregar 400 μ L de "sarcosil" 10%, vertiendo en la pared del tubo
- Se coloca un "parafilm" y se mezcla suavemente por inversión una sola vez
- Centrifugar 15 min, 18°C, 14 000rpm
- Mientras se centrifugan las muestras se termina de lavar el "politrón". Todas las toallas de papel, puntas de las pipetas y el "parafilm" van a la bolsa roja de desechos especiales
- Se sacan 6 tubos de polialómero, se les colocan 4 mL de cloruro de cesio con pipeta desechable y se numeran
- Se localiza la pastilla en los tubos centrifugados y se mete la punta de la pipeta en el lado contrario

- Se toman 8 mL de sobrenadante cuidando de no llevarse residuos sólidos y se vierte suavemente por las paredes del tubo con CsCl para no romper el gradiente
- Las pipetas se devuelven a su empaque. Se usa una pipeta por muestra
- Las camisas del rotor de la ultracentrífuga están numeradas, se colocan las muestras suavemente y se atornilla la tapa
- Se enganchan las camisas al rotor cerca de la ultracentrífuga; hay que revisar que estén bien fijadas. La ultracentrífuga tiene un sensor para la velocidad y no debe tener polvo por lo que hay que abrir la tapa hasta el momento de meter el rotor
- Se sostiene el rotor de los lados, sin tocar las camisas y se coloca suavemente en la centrifuga
- Se revisan las camisas por última vez, girando un poco el rotor
- Se enciende al vacío y las centrifugas 18 horas, 18°C, 29 000 rpm
- Se espera hasta alcanzar la velocidad máxima mientras se realizan los registros en la hoja de control

Día 2

- Pasando las 18 horas se apaga el vacío, se saca el rotor y se deposita con cuidado en su base
 - Se destapan las camisas y con una aguja se extraen los tubos
 - Se vierte todo al sobrenadante en un vaso de plástico y se mantienen invertidos en una gradilla con una toallita de papel desechable en la base
 - Se tira el líquido y las toallitas de papel desechables
 - Se rotulan 6 tubos Eppendorf de 2.0 mL
 - Con bisturí se corta el tubo con la pastilla de RNA a ± 2 cm de la base y se disuelve con 300 μ L se *DEPC* filtrada, pipeteando para disolverla un poco
 - Se coloca en el tubo y se repite la operación para tener un volumen de 600 μ L
 - Al finalizar las 6 muestras se mezclan en "vortex" hasta disolver la pastilla completamente (± 15 min)
 - Se añaden 60 μ L de acetato de sodio 3M, pH 5.2 y 1000 μ L de etanol 100% para precipitar el ARN
 - Se guarda por 24 horas a -80°C

Día 3

- Se enciende la microcentrífuga y se ajusta: 30 min, 4°C, 14000 rpm
- Se enciende un termobloque a 65°C
- Cuando la centrífuga haya alcanzado los 4°C, se sacan las muestras del ultracongelador, se descongelan
- Se mezclan con un *vórtex* y se centrifugan durante 30 min
- Se desecha el etanol cuidando de que la pastilla no se desprenda del tubo
- Se deja escurrir por inversión
- Se añade 1 mL de etanol al 70% frío y se sujeta a un *vórtex* hasta que la pastilla se despegue
- Se centrifuga 15 min a 4°C y 14 000 rpm
- Se desecha el etanol con más cuidado porque la pastilla está más floja
- Se secan las paredes del tubo con papel higiénico prensado sin pelusa
- Se resuspenden en formalina o *DEPC* dependiendo del tamaño de la pastilla y se mezcla con un *vórtex* hasta que se disuelva
- Se invierte el tubo para verificar la viscosidad y se añade más formalina ó *DEPC* si es necesario
- Una vez perfectamente bien disuelto el ARN, se calientan las muestras a 65°C por 5 min
- Se cuantifica y almacena a - 70°C

BIBLIOGRAFÍA

- Aeberli, I., Zimmermann, M.B., Molinari, L., Lehman, R., l'Allemand, D., Spinaz, G.A., Berneis, K.** 2007. Fructose intake is a predictor of LDL particle size in overweight schoolchildren. *Am. J. Clin. Nutr.* 86: 1174-1178.
- Aguilar, J. A.** 1999. ¿Dulce alternativa? Edulcorantes artificiales. *Revista del consumidor (México)*. Consultado en las redes internacionales. Dirección electrónica: http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos_04/edulcorantes_abr04.pdf. Pp. 58 – 61
- Anónimo.** 2009a. Determinación de colesterol en sangre. Consultado en las redes internacionales (Internet). Dirección: http://www.grupomoscuro.com/insetos/quimica%20clinica/HDL_COL.doc. Fecha de consulta el 15 de abril del 2009.
- Anónimo.** 2009b. Determinación de triglicéridos en sangre. Consultado en las redes internacionales (Internet). Dirección: <http://www.brandsd.com/insetos%20Y%20aplicaciones/insetos/trigliceridos-%20GPO.doc>. Fecha de consulta el 15 de abril del 2009
- Anónimo.** 2009c. Determinación de glucosa en sangre Consultado en las redes internacionales (Internet). Dirección: http://www.grupomoscuro.com/insetos/quimica%20clinica/GLU_OXI.doc. Fecha de consulta el 15 de abril del 2009
- ANPRAC.** 2011. Asociación Nacional de Productores de Refrescos y Aguas Carbonatadas, A.C. La Industria de Refrescos y Aguas Carbonatadas 2007, 2008. En las redes internacionales. Consultada el 15 de noviembre de 2009 y el 15 de marzo de 11. Dirección electrónica: <http://www.anprac.org.mx/501.html>
- Anthony-Parker C., Kolthoff N.J.** 1977. *Anatomía y Fisiología*. Ed Interamericana. 3ª Edición, pp. 334–342, 403–408, 450–462. México D.F. México.
- AOAC.** 1990. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15a. Ed. Vol. II. Pp. 777-781. Dirección electrónica: www.respyn.uanl.mx/especiales/2005
- Baduí-Dergal, S.** 2006. *Química de los Alimentos*. Addison Wesley de México, 3ª edición, México D.F. México.
- Bárcenas-Ochoa, G.** 2008. Informe final del Laboratorio de Desarrollo Experimental de Alimentos. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
- Barquera, S., Olaiz, G.** 2000. *Obesidad en México. Análisis de la encuesta Nacional de Salud*. En las redes internacionales. Consultada el 15 de noviembre de 2009. Dirección electrónica: <http://portal.salud.gob.mx/descargas/pdf/pnscap1.pdf>
- Bautista-Justo, M., Barboza, J. E., Gamiño, Z., Alanís, M. G.** 2005. Alimentos bajos en energía: ¿Qué es lo que debemos saber de ellos? *Acta Universitaria*, Septiembre-Diciembre. 15:3. Pp. 25-33. Universidad de Guanajuato. Guanajuato, México.
- Benton, D.** 2005. Can artificial sweeteners help control body weight and prevent obesity? *Nutrition Research*. 18:63-76.
- Bigal, M. E., Krymchantowski, A. V.** 2006. Migraine triggered by sucralose: A case report. *Headache*. 46(3):515-517.
- Bocarsly, E. M., Powell, S. E., Avena, M. N., Bartley, G. H.** 2010. High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: Increased body weight, body fat and triglyceride levels. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. PBB-70868. Pp 1-6. Elsevier doi:10.1016/j.pbb.2010.02.012.
- Bray, G., Nielsen J. S., Popkin, B., M.** (2004). Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *J. Clin. Nutr.* 79:537–543.
- Bustamante, G., Gómez, M., Naranjo, R., Salas, G., Vázquez, A.** 2000. *Manual para el uso y manejo de la rata y el ratón como animales de laboratorio*. Facultad de Química, UNAM. Bioterio de la Facultad de Química y Departamento de Farmacia. Sección de

- Farmacia. México D.F., México. Citado en González-Filomeno (2007). Efecto biológico de la adición de, fructosa, sacarosa, sucralosa o aspartame al agua de beber mediante su suministro a ratas de laboratorio. Tesis profesional. UNAM, Facultad de Química, México D.F. México
- Bustin, S.A.** 2002. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. *Journal of Molecular Endocrinology*. 29:23-39.
- Calvillo, A.,** Moncada, G, Gómez, L, 2007. Manifiesto por la salud alimentaria en el combate a la epidemia de obesidad. El poder del consumidor. En las redes internacionales. Consultada el 15 de noviembre de 2009. Dirección electrónica: [http://www.boell-latinoamerica.org/downloads/manifiesto_salud-alimentaria_\(1\).pdf](http://www.boell-latinoamerica.org/downloads/manifiesto_salud-alimentaria_(1).pdf)
- Carrillo-Núñez, S.G.** 2010. Efecto de los edulcorantes en bebidas no alcohólicas. Análisis estadístico de datos sobre ganancia en masa corporal. Informe de la asignatura Laboratorio de Desarrollo Experimental de Alimentos. Semestre 2011-1. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
- Carrillo-Núñez, S.G.** 2011. Estudios estadísticos sobre los datos de ganancia en masa corporal de animales de laboratorio que ingirieron edulcorantes en el agua potable. Tesis profesional de Química de Alimentos. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
- Casado-Pinna M.** 2009. Regulación de la expresión génica por glucosa. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Valencia. Valencia, España. <http://www.analesranf.com>
- Clauss, K.,** Linkies, A., Reuschling, D. 1986. Process for preparation of 6-methyl-3,4-dihydro-1,2,3-oxathianon-toxic salts. United States Patents, Patents Number 4563521
- Comunicado** Por los Derechos del Consumidor y Contra los Monopolios: México es ya el mayor consumidor de refresco en el mundo: consumidores demandan imponerle impuesto, 5 de septiembre de 2011. http://www.oxfamMexico.org/oxfam/descargas/Comunicado_refrescos.pdf
- Constantinopoulos, G.,** Boyd, E.N. 1968. Maximal tolerante amounts of sucrose given by daily intragastric administration to albino rats. *Food and Cosmetics Toxicology*. 6(6):717-727.
- Corzar, M.,** Muñoz, I., Alvarez, J., Fernández, M., Holgado, M. 2010. Nuevas perspectivas en la administración de insulina. Depto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. Sevilla, España.
- de-la-Higuera-López-Frías, M.,** Valdés-Hernández, S., Soriguer-Escofet, F. 2007. GLP-1- Generalidades e interacción incretinas-nutrientes. *Rev. Clin. Esp.* 207(10):501-504.
- DOF 1999.** Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario oficial de la Federación Poder ejecutivo Federal. México D.F. México.
- DOF. 2009.** DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN. Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. Jueves 24 de septiembre de 2009 (Primera Sección). México D.F. México.
- Durán-de-Bazúa, C.** 2007. **CONFERENCIA ESPECIAL.** Estudios recientes sobre la sacarosa. ASAMBLEA GENERAL ORDINARIA DE LA UNIÓN NACIONAL DE CAÑEROS, A.C. y SEMINARIOS DE CAPACITACIÓN Y ACTUALIZACIÓN PARA DIRIGENTES CAÑEROS. Junio 6. México D.F. México.
- Dyer, J.,** Daly, K., Salmon, K.S.H., Arora, D.K., Kokrashvili, Z., Margolskee, R.F., Shirazi-Beechey, S.P. 2007. Intestinal glucose sensing and regulation of intestinal glucose absorption. *Biochem. Soc. Trans.* 35(5):1191-1194.
- ENSANUT.** 2006. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Pub. Secretaría de Salud. Poder Ejecutivo federal. México D.F. México.
- Esquivel-Solís, V.,** Gómez-Salas G. 2007. Implicaciones metabólicas del consumo excesivo de fructosa. *AMC (Acta Médica Costarricense, Colegio de Médicos y Cirujanos)*. 49 (4):198-202.

- Flatt**, P.R. 2008. Gastric inhibitory polypeptide (GIP) revisited: a new therapeutic target for obesity-diabetes? *Diabetic Medicine*. 25:759-764.
- Flint**, A, Raben, A, Astrup, A, Holst, JJ. 1998. Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *J. Clin Invest*. 101:515-520.
- Flores-Jiménez** V. M. 2012. Impacto de los edulcorantes naturales y artificiales en un modelo animal en el desarrollo del sobrepeso y/o la obesidad: Determinaciones bioquímicas. Reporte de Estancia Estudiantil 2012. Facultad de Química, UNAM. México, D.F. México.
- FDA**. 2010. Food and Drug Administration, Sugar Substitutes: Americans Opt for Sweetness and Lite. *Consumer Magazine* November-December 1999; Rev. Enero del 2010. http://www.fda.gov/fdac/features/1999/699_sugar.html
- Fowler**, P. S., Williams, K., Resendez, G, R., Hunt, J, K., Haduza, P, H., Stern, P, M., 2008. Fueling the Obesity Epidemic? Artificially sweetened beverage use and long-term weight gain. *Obesity*. 16:1894–1900. doi:10.1038/oby.2008.284
- Gersch**, M., Mu, W., Cirillo, P, Reungjui, S., Zhang, L., Roncal, C., Sautin, Y., Johnson, R., Nakagawa, T. 2007. Fructose, but not dextrose, accelerates the progresion of chronic kidney disease. *Am. J. Physiol. Renal Physiol*. 293:F1256-F1261
- Gimeno**, O. J., Lou, A. L.M., Molinero, H. E., Boned, J. B., Portilla, D. 2004. Influencia del síndrome metabólico en el riesgo cardiovascular de pacientes con diabetes tipo 2. *Rev. Esp. Cardiol*. 57(6):507-513
- González-Filomeno**, E. 2006. Informe final del Laboratorio de Desarrollo Experimental de Alimentos. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
- Google** Imágenes 2011a. Hígado. Tomada de la dirección electrónica: <http://www.emagister.com/curso-anatomia-aparato-digestivo/higado>
- Google** Imágenes 2011b. Páncreas. Tomada de la dirección electrónica: <http://www.tuendocrinologo.com/site/endocrinologia/diabetes/diabetes-mellitus-dm>.
- Google** Imágenes 2011c. Riñón. Tomada de la dirección electrónica: <http://www.ferato.com/wiki/index.php/Ri%C3%B1%C3%B3n>
- Google** Imágenes 2011d. Corazón. Tomada de la dirección electrónica: <http://guiafitness.com/el-corazon-y-los-ejercicios>.
- Google** Imágenes 2011e. Tejido retroperitoneal. Tomada de la dirección electrónica: [http://amebanature.wikispaces.com/TEJIDO+ADIPOSO\(+apto+respiratorio\)](http://amebanature.wikispaces.com/TEJIDO+ADIPOSO(+apto+respiratorio)).
- Gracia-Mora**, M. I. 2008. Comunicación personal. Unidad de Experimentación Animal del Conjunto E de la Facultad de Química, UNAM. México D.F. México.
- Grice**, H.C., Goldsmith, L.A. 2000. Sucralose: An overview of the toxicity data. *Food and Chemical Toxicology*. 38(suppl2):S1-S6.
- Gutiérrez-Moreno**, P.L., Carro-Suárez, J.R. 2005. Estudio de inteligencia tecnológica sobre la síntesis de un edulcorante intensivo derivado del azúcar. Pub. Instituto Cubano de Investigaciones Azucareras (ICINAZ). Carretera del ISPJAE. Km 2½, Boyeros, Ciudad de La Habana, Cuba.
- Harlan**. 2004. Alimento “Teklad Global” para roedores (18% proteína esterilizable). Producto No. 2018S. Harlan México, S.A. de C.V. México, D.F. México.
- Harlan**. 2009. Alimento “Teklad Global” para roedores (18% proteína esterilizable). Hoja Técnica de composición bromatológica⁷ enviada directamente por personal de harlan del Producto No. 2018S. Harlan México, S.A. de C.V. México, D.F. México.
- Health Canada**. 2007. Reinstate Saccharin for Use as a Sweetener in Foods in Canada. Chemical Health Hazard Assessment Division. Ottawa, Ontario, Canada. Dirección electrónica:http://web.hcsc.gc.ca/fnan/securit/addit/sweetenedulcor/saccharin_prop_e.html
- Hofmann**, S.M., Tschöp, M.H. 2009. Dietary sugars: a fat difference. *J. Clin. Invest*. 119(5):1089-1092.

⁷ Bromatológico es lo perteneciente o relativo a la bromatología, que es la ciencia que trata de los alimentos. Proximal es, anatómicamente, la parte de un miembro o un órgano más próxima a la línea media del organismo en cuestión

- Institute of Medicine.** 2005. Dietary reference intakes for energy, carbohydrates, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. Washington, DC. EEUU.
- IMSS.** 2009. Por la Salud amigos del IMSS. Fecha de consulta el 14 de agosto de 2009. Página de Internet del Instituto Mexicano del Seguro Social. Dirección electrónica: <http://porlasaludimss.blogspot.com/>.
- ISA.** 2011. International Sweeteners Association: Dirección electrónica fecha de consulta en mayo de 2011: http://www.isabru.org/pdf/E962_Sal_de_aspartamo_acesulfamo_SP.pdf
- Jiménez-Godínez, N.G., Ramírez-Gómez, M.B.** (2008). Impacto de los edulcorantes naturales y artificiales en un modelo animal en el desarrollo de la obesidad y sus implicaciones metabólicas. Informe final del Laboratorio de Desarrollo Experimental de Alimentos. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
- JECFA.1993.** Evaluación de los riesgos asociados con las sustancias químicas, sweeteners. Dirección electrónica: <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/1993results.html>
- Johnson, J.R, Sánchez-Lozada, L.G., Nakagawa, T.** 2010. The effect of fructose on renal biology and disease. *J. AM. Soc. Nephrol.* 21(12):2036-2039.
- Johnson, J.R., Segal, M. S., Sautin, Y., Nakagawa, T., Feig, D. I., Kang, D. H., Gersch, M. S., Benner, S., Sánchez-Lozada, L. G.** 2007. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 86:899-906.
- JSTFA.** 1999. A report on sucralose from the Food Sanitation Council. Joint Committee on Toxicity and Food Additives. The Japan Food Chemical research Foundation. Last Update 2009/03/12. Dirección electrónica: www.ffcr.or.jp/zaidan/ffcrhome.nsf/pages/e-kousei-sucra
- Jürgens, H., Haass, W., Castañeda, T. R., Schürmann, A., Koebnick, C., Dombrowski, F., Otto, B., Nawrocki, A.R., Scherer, P. E., Spranger, J., Ristow, M., Joost, G. H., Havel, P. J., Tschöp, M. H.** 2005. Consuming fructose-sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obes. Res.* 13(7):1146-1156.
- Kauffer-Horwitz M., Tavano-Colaizz L., Ávila-Rosas H.** 2000. Obesidad en el adulto. En las redes internacionales. Consultada el 15 de noviembre de 2009. Dirección Electrónica: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/salud/censenanza/spi/unidad2/obesidad.pdf>
- Kreisberg, A. R., Reusch, E.B. J.** 2005. Hiperlipidemia (Exceso de grasa en la sangre). Consultada el 16 de junio de 2011. Dirección electrónica: <http://www.hormone.org/Spanish/upload/hyperlipidemia-spanish-071009.pdf>
- Laguna-Camacho, A.** 2006. Sobrepeso: Estrategias para mejorar el manejo nutricional. *Revista de Endocrinología y Nutrición (Toluca, Estado de México).* 14(2):102-113.
- Leatherhead International Limited.** 2010. The Global Market for Intense Sweeteners. Ed. Leatherhead Food Research Association. Pp 68. ISBN:978-1-905224-98-2. Washington, DC. EEUU.
- Lehninger, A., Nelson L.D., Cox, M.M.** 2006. *Sarvier.* 4ª Edición. Pp. 521-548, 995-1030. México D.F. México.
- Li, X., Staszewski, L., Xu, H., Durick, K., Zoller, M., Adler, E.** 2002. Human receptors for sweet and umami taste. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99(7):4692-4696. Dirección electrónica: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.072090199
- Mace, O.J., Affleck, J., Patel, N., Kellett, L.G.** 2007. Sweet taste receptors in rat small intestine stimulate glucose absorption through apical GLUT2. *J. Physiol.* 582(1):379-392.
- Martínez, C., González, E., García-Gómez, R.S., Salas, G., Constantino-Casas, F., Macías, L., Gracia, I., Tovar, C., Durán-de-Bazúa, C.** 2010. Effects on body mass of laboratory rats after ingestion of drinking water with sucrose, fructose, aspartame, and sucralose additives. *The Open Obesity Journal.* 2:116-124.
- Martínez-Tinajero, C., González-Filomeno, E., García-Gómez, R.S., Constantino-Casas, F., Durán-de-Bazúa, C.** 2006. Sweetenings as hazardous substances: Biological effect of the addition of sucrose, fructose, aspartame, and sucralose given to laboratory rats in the drinking water / Los edulcorantes como sustancias peligrosas: Efecto biológico de la adición de sacarosa, fructosa, aspartame y sucralosa suministradas a ratas de

- laboratorio en el agua de beber. En ***Proceedings of the 2006 FOURTH INTERNATIONAL MINISYMPOSIUM ON REMOVAL OF CONTAMINANTS FROM WASTEWATERS, ATMOSPHERE, AND SOILS***. C. Durán-de-Bazúa, L.I. Ramírez Burgos (Eds.). Disco compacto (versión electrónica). Pp. 222-227. PIQAYQA, Facultad de Química, UNAM. Noviembre 8-11, 2006. México D.F. México.
- Merck.** 2011. Dirección electrónica: http://www.merckmillipore.com/is-bin/INTERSHOP.enfinity/WFS/Merck-MX-Site/es_ES/-/USD/ViewPDF-Print.pdf?RenderPageType=ProductDetail&CatalogCategoryID=HgKb.s1LNpIAAAEWIeEfVhTI&ProductUUID=bKWb.s1OsA0AAAEanWN7Cimq&PortalCatalogUUID=t02b.s1LX0MAAAEWc9UfVhTI
- Millipore. 2012**
- MSDS.** 2011. Material Safety Data Sheet. Dirección electrónica: <http://msds.chem.ox.ac.uk/index2.html>
- O'Brien-Nabors, L. 2011.** Alternative sweeteners. 4a ed. CRC Inc. Nueva York, NY, EEUU.
- O'Brien-Nabors, L., Gelardi, R.C. 1991.** Alternative sweeteners. Calorie Control Council. 2a ed. Ed. Marcel Dekker. Pp. 39-63. Atlanta, GA, EEUU.
- Olfert, E., Cross, B., McWilliam, A. 2006.** Manual sobre el cuidado y experimentación. The Canadian Council on Animal Care (CCAC). Citado en González-Filomeno (2007). Efecto biológico de la adición de fructosa, sacarosa, sucralosa o aspartame al agua de beber mediante su suministro a ratas de laboratorio. Tesis profesional. UNAM, Facultad de Química, México D.F. México.
- OMS.** 2004. Organización Mundial de la Salud. Consultado en la redes internacionales, marzo de 2011. Dirección: <http://www.oms.org>
- Ortega-Gutiérrez, M.M. 2010.** Desarrollo de un método por cromatografía de líquidos de alta resolución CLAR para la determinación de edulcorantes naturales y artificiales (acesulfame de potasio, aspartame, sucralosa, sacarina, fructosa y sacarosa). Tesis profesional de Química de Alimentos. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
- Palou, M., Bonet, M., Picó, C., Rodríguez, A. 2004.** Nutrigenómica y obesidad. Rev. Med. Univ. Navarra. 48(2):36-48.
- Parker, A.C., Kolthoff, N.J. 1977.** Anatomía y Fisiología. 3ª edición ed Interamericana. Pp. 334–342, 403–408, 450–462.
- Parks, J. E., Hellerstein, K, M. 2000.** Carbohydrate – induced hypertriglycerolemia. Am. J. Clin. Nutr; 71:412–433.
- Pérez-Rico, J.M., Reyes-Díaz, C.A. 2010.** Efecto de la ingestión crónica de edulcorantes naturales y artificiales en un modelo animal en la ganancia de masa corporal. Tesis profesional de Química de Alimentos. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
- Postic, C., Dentin, R., Denechaud, P.-D., Girard, J. 2007.** ChREBP, a Transcriptional Regulation of Glucose and Lipid Metabolism. J. Nutr. 27:179-192.
- Repa, J.J., Liang, G., Ou, J., Bashmakov, Y., Lobaccaro, A J.M., Shimomura, I., Shan B., Brown, S.M., Goldstein, L.J., Mangelsdorf, J. 2000.** Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXR α and LXR β . Genes & Development. 14:2819-830.
- Rivera, J. A., Muñoz-Hernández, O., Rosas-Peralta, M., Aguilar-Salinas, C. A., Popkin, B. M., Willett, W. C. 2008.** Consumo de bebidas para una vida saludable: Recomendaciones para la población mexicana. Salud Pública México. 50(2):172-194.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E. Eds. 2009.** Handbook of Pharmaceutical Excipients. P. 451. 6ª Ed. Pharmaceutical Press, PP-APhA. Washington, DC, EUU (<http://es.scribd.com/doc/77286620/451/Sucralose>).
- Salinas-Rivera, A. 2011.** Colesterol, triglicéridos y glucosa en suero sanguíneo y determinación de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real en tejido hepático (*PCR-Real time*) de un modelo animal con ingestión crónica de edulcorantes energéticos e hipoenergéticos. Tesis profesional de Química de Alimentos en proceso. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.

- Sánchez-Lozada**, L.G., Tapia, E., Jiménez, A., Bautista, P., Cristóbal, M., Nepomuceno, T., Soto, V., Ávila-Casado, C., Nakagawa, T., Johnson, R.J., Herrera-Acosta, J., Franco, M. 2007. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am. J. Physiol. (Renal Physiol.)*. 292:F423-F429.
- Scribd**. 2009. Sucralose and saccharin history: Chemistry and risks. Consultado de las redes internacionales (Internet). Dirección:<http://www.scribd.com/doc/4173755/Sucralose-and-Saccharin-History-Chemistry-and-Risks>.
- Soffritti**, M., Belpoggi, F., Tibaldi, E., Degli, E.D., Lauriola, M. 2007. Life span exposure to low doses of aspartame beginning during prenatal life increases cancer effects in rats. *Environmental Health Perspectives*. 115(9):1293-1297.
- Stanhope**, K.L., Havel J.P. 2009. Fructose consumption: Considerations for future research on its effects on adipose distribution, lipid metabolism, and insulin sensitivity in humans. *J. Nutr.* 139:1236S-1241S.
- Stanhope**, K.L., Schwarz, J.M., Keim, N.L., Griffen, S.C., Bremer, A.A., Graham, J.L., Hatcher, B., Cox, C.L., Dyachenko, A., Zhang, W., McGahan, J.P., Seibert, A., Krauss, R.M., Chiu, S., Schaefer, E.J., Ai, M., Otokozawa, S., Nakajima, K., Nakano, T., Beysen, C., Hellerstein, M.K., Berglund, L., Havel, P.J. 2009. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overmass/obese humans. *J. Clin. Invest.* 119(5):1322-1334.
- Stegink**, L.D.1987.The Aspartame Story: a Model for the Clinical Testing of a Food Additive. *Am. J. Clin. Nutr.* 46:204-215.
- Sutil-de-N**, R., Carrizales, M., Leal-de-G, M., Torres, M., Márquez, M. 2001. Efectos potenciales del dipéptido aspartame sobre el aprendizaje y la memoria en ratones. *Salus (Venezuela)*. 5(1):24-31.
- Tappy**, L., Lee, K.-A. 2010. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol. Rev.* 90:23-46. doi:10.1152/physrev.00019.
- Tordoff**, M.G., Alleva, A.M. 1990. Effect of drinking soda sweetened with aspartame or high-fructose corn syrup on food intake and body weight. *Am J. Clin Nutr.* 51:963-969.
- Torres-y-Torres**, N., y Tovar-Palacio., A. 2010. Comunicación Personal directa. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Departamento de Fisiología de la Nutrición. Julio. México D. F. México.
- Torresani**, M., Cardone, C., Palermo, C., Rodríguez, V., Viegner, C., Garavano, C., Di Sanzo, M., Llaría, C. 2001. Manejo y consumo de productos dietéticos y edulcorantes no nutritivos. Cátedra de Dietoterapia del Adulto, Escuela de Nutrición. UBA. Argentina. *Rev. Esp. Nutr. Comunitaria*. 7(3-4):61-68.
- Tovar-Palacio**, C.T. 2009. Comunicación personal. Laboratorio de Nefrología y Metabolismo Mineral del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán". México D.F. México.
- Uyeda**, K., Takummi, K., Makoto, T., Tsutomu, K. 2001. Glucose and cAMP regulate the L-type pyruvate kinase gene by phosphorylation-dephosphorylation of the carbohydrate response element binding protein. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences)*. 98(24):13710–13 715.
- Vernia-Miralles** S., 2007. Estudio del factor de transcripción SREBP1 en estados de resistencia a insulina. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia. Valencia, España.
- Vinueza-Burgos**, Ch. 2009. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. ISSN: 1695-7504. Vol. 10, N°2. Rev. Electrón. Vet. Dirección electrónica: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>.
- Walker**, R. 2011. Acesulfame Potassium. First draft. Dirección electrónica: <http://datastandard.co.uk/caspdf/case5.pdf>
- Weihrauch**, M. R., Diehl, V. 2004. Artificial sweeteners: Do they bear a carcinogenic risk? *Med. Ann. Oncol.* 15(10):1460-1465.

- Whitehouse**, C., R., Boullata, J., McCauley, L. A. 2008. The potential toxicity of artificial sweeteners. *AAOHN J.* 56(6):251-259.
- Woods**, S.C., Decker, E., Vasselli, J.R. 1974. Metabolic hormones and regulation of body weight. *Psychol. Rev.* 81(1):26-43.
- Woods**, S.C., Figlewicks, D.P., Schwarts, M.W., Porte, D. Jr. 1990. A re-assessment of the regulation of adiposity and appetite by the brain insulin system. *Int. J. Obesity.* 14(Suppl. 3):69-76.
- Woods**, S.C., Seeley, R.J. 2000. Adiposity signals and the control of energy homeostasis. *Nutrition.* 16:894-902.
- Yoe**, C. 2011. Aspartame risk assessment. Food safety análisis exercise. College of Notre Dame of Maryland. Dirección electrónica: <http://www.foodriskclearinghouse.umd.edu>
- Zimmet**, P., Alberti, G., Serrano, R. 2005. Una nueva definición mundial del síndrome metabólico propuesta por la Federación Internacional de Diabetes: Fundamento y Resultados. *Rev. Esp. Cardiol.* 58(12):1371-1376.