



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**EFFECTO DEL CONSUMO CRÓNICO DE EDULCORANTES
CALÓRICOS SOBRE LOS PATRONES DE GANANCIA
CORPORAL, EL CONSUMO DE ALIMENTOS Y BEBIDA Y
LA INGESTA ENERGÉTICA DE RATAS WISTAR DURANTE
LA ETAPA DE CRECIMIENTO (DESTETE A 165 DÍAS)**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA:

Ana Saraf Berrios Roque



CIUDAD DE MÉXICO

2020



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	Q.F.B. Agustín Reyó Herrera
Secretario	M. en A.I. Landy Irene Ramírez Burgos
1er. Suplente	Dra. Marisela Bernal González
2do. Suplente	M. en C. Rolando Salvador García Gómez

SITIO EN DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (LIQAYQA) del Conjunto E de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México
Unidad de Experimentación Animal (UNEXA) del Conjunto E de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México

ASESOR DEL TEMA

Dra. María del Carmen Durán Domínguez

SUPERVISOR TÉCNICO

M. en C. Rolando Salvador García Gómez

SUSTENTANTE

Ana Saraí Berrios Roque

Declaración

“Declaro conocer el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, plasmado en la Legislación Universitaria. Con base en las definiciones de integridad y honestidad ahí especificadas, aseguro mediante mi firma al calce que el presente trabajo es original y enteramente de mi autoría. Todas las citas de, o en referencia a, las obras de otros autores aparecen debida y adecuadamente señaladas, así como acreditadas mediante recursos editoriales convencionales”

Ana Saraí Berrios Roque

RECONOCIMIENTOS Y AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, mi escuela, por abrirme sus puertas desde el bachillerato y así permitirme lograr tantas cosas, darme increíbles experiencias y aprendizajes. Siempre me sentiré agradecida y en deuda con la Universidad

A la enseñanza académica y experimental brindada por los profesores de la Facultad de Química, especialmente a los de las asignaturas terminales de la carrera de Química de Alimentos impartida en la Facultad de Química de la UNAM

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM ya que por medio del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) Número IN-217619 "Efecto del consumo de edulcorantes sobre la actividad de las enzimas reguladoras de la glucólisis y la lipogénesis en extractos de hepatocitos y sus implicaciones metabólicas sobre el exceso de masa corporal y la obesidad" fue posible la adquisición de los materiales y reactivos empleados en esta investigación

Con admiración y respeto a la Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa por su apoyo en la realización de este trabajo experimental

Al M. en C. Rolando Salvador García Gómez por el apoyo incondicional en todo momento y su valiosa asesoría técnica brindada desde el día uno en la estancia académica hasta la elaboración de este trabajo en los Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (LIQAyQA)

Al Q.A., M. en C. Cand. Dr. Samuel Mendoza Pérez por su valiosa ayuda y asesoría, por todos los buenos consejos y por su paciencia día a día en el avance del proyecto

A mis compañeros y amigos del proyecto de Edulcorantes de los Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (LIQAYQA) y la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA); Carlos, Grecia, Anahí, Diana, Diego y Andrea, que gracias a su apoyo y compañía hicieron más ameno todo el trabajo y este proceso y que sin ellos esto no sería igual

A mis padres, mis hermanos, mis tíos y primos que ayudaron y apoyaron durante toda la carrera para seguir adelante con mis objetivos y nunca darme por vencida a pesar del cansancio y el estrés; por entender y aguantar mis enojos durante todo este tiempo y quererme a pesar de ellos

A los Cardano; Toño, Carmen, Adrián, Mayra, Lalo, Mau, Sixtos, Montse, Steven, Ale, Naim y Alicia porque compartimos sentimientos, formas de pensar, alegrías, decepciones, logros y fiestas durante toda la carrera y creamos una segunda familia que durará a pesar de los años

¡De corazón a todos, muchas gracias!

ÍNDICE

	Página
I. ÍNDICE DE TABLAS	III
II. ÍNDICE DE FIGURAS	IV
III. ÍNDICE DE GRÁFICOS Y DIAGRAMAS	VI
IV. GLOSARIO DE TÉRMINOS	VII
V. ABREVIATURAS, SIGLAS Y UNIDADES	XI
VI. RESUMEN	XIII
CAPÍTULO 1 PROBLEMÁTICA	1
1.1 Introducción	1
1.2 Objetivos	3
1.2.1 Objetivo general	3
1.2.2 Objetivos específicos	3
1.3.2 Hipótesis	4
CAPÍTULO 2 MARCO TEÓRICO	5
2.1 Carbohidratos	5
2.2 Edulcorantes	6
2.2.1 Edulcorantes calóricos	6
2.2.1.1 Glucosa	7
2.2.1.2 Fructosa	9
2.2.1.3 Sacarosa	11
2.3 Homeostasis energética	12
2.4 Lipogénesis	14
2.5 Síndrome metabólico	17
2.5.1 Exceso de masa corporal y obesidad	18
2.5.2 Diabetes mellitus	20
2.6 Termogénesis	21

		Página
CAPÍTULO 3	METODOLOGÍA Y DISEÑO DE EXPERIMENTOS	24
3.1	Diagrama de flujo del proceso experimental	24
3.2	Diseño experimental	25
3.3.	Metodología	25
3.3.1	Modelos animales	25
3.3.2	Dieta administrada	26
3.3.3	Bebida suministrada	26
3.3.4	Registro de datos de los parámetros evaluados	27
3.3.5	Mantenimiento de los especímenes	27
3.3.6	Eutanasia de los animales y obtención del tejido adiposo	27
3.4	Análisis estadístico	28
CAPÍTULO 4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1	Incremento de masa corporal	31
4.2	Alimento consumido	36
4.3	Bebida ingerida	41
4.4	Cálculo de la ingesta energética	48
4.5	Cuantificación de tejido adiposo retroperitoneal	53
CAPÍTULO 5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	62
5.1	Conclusiones	62
5.2	Recomendaciones	64
ANEXOS		
ANEXO 1.	Evaluación de la normalidad de los datos con la Prueba de Kolmogrov –Smirnov	67
ANEXO 2.	Evaluación de la homocedasticidad de los datos con la Prueba de Levene	68
ANEXO 3a.	Historia de las ratas de laboratorio usadas en estos experimentos (https://wistar.org/wistar-archives) (http://www.wistar.org/about_wistar/history.html)	69
ANEXO 3b.	Curva de crecimiento de ratas macho y hembra de la estirpe Wistar (Adaptada de ENVIGO (2008) y ENVIGO	73

	(2016))	Página
ANEXO 4.	Disposición de los residuos generados en la investigación	74
ANEXO 5.	Fotografías del proyecto	76
BIBLIOGRAFÍA		80

I. ÍNDICE DE TABLAS

Tablas	Nombre	Páginas
Tabla 4.1.	Promedio de la masa corporal de las ratas en el día 165 de experimentación	32
Tabla 4.2.	Análisis de varianza multifactorial, andeva (ANOVA en inglés) para el incremento en masa corporal acumulado a lo largo de 165 días para machos y hembras	33
Tabla 4.3.	Análisis de varianza unifactorial, andeva (ANOVA en inglés) para el incremento en masa corporal de las ratas macho	35
Tabla 4.4.	Análisis de varianza unifactorial, andeva (ANOVA en inglés), para el incremento en masa corporal de las ratas hembra	36
Tabla 4.5.	Resultados de la Prueba de Games-Howell para la ingesta de alimento de ratas macho	38
Tabla 4.6.	Resultados de la Prueba de Games-Howell para la ingesta de alimento de ratas hembra	39
Tabla 4.7.	Resultados de la prueba de medianas de Mood para efecto del género del animal sobre el consumo de bebida	42
Tabla 4.8.	Resultados de la prueba de medianas de Mood para efecto de los edulcorantes sobre el consumo de bebida en ratas macho	44
Tabla 4.9.	Resultados de la prueba de medianas de Mood para efecto de los edulcorantes sobre el consumo de bebida en ratas hembra	44
Tabla 4.10.	Promedio de consumo de alimento y bebida ingerida de ratas macho	46
Tabla 4.11.	Promedio de consumo de alimento y bebida ingerida de ratas hembra	46
Tabla 4.12.	Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas macho del grupo basal	53
Tabla 4.13.	Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas hembra del grupo basal	54

Tablas	Nombre	Páginas
Tabla 4.14.	Análisis de varianza unifactorial, andeva (ANOVA en inglés) para la cantidad de tejido adiposo de ratas macho y hembra del grupo basal	54
Tabla 4.15.	Análisis de varianza multifactorial, andeva (ANOVA en inglés) para la masa de tejido adiposo retroperitoneal de ratas macho y hembra después de 165 días de experimentación	56
Tabla 4.16.	Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas macho del grupo control después de 165 días de experimentación	57
Tabla 4.17.	Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas macho del grupo que consumió glucosa después de 165 días de experimentación	57
Tabla 4.18.	Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas macho del grupo que consumió fructosa después de 165 días de experimentación	58
Tabla 4.19.	Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas macho del grupo que consumió sacarosa después de 165 días de experimentación	58
Tabla 4.20.	Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas hembra del grupo control después de 165 días de experimentación	60
Tabla 4.21.	Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas hembra del grupo que consumió glucosa después de 165 días de experimentación	60
Tabla 4.22.	Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas hembra del grupo que consumió fructosa después de 165 días de experimentación	60
Tabla 4.23.	Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas hembra del grupo que consumió sacarosa después de 165 días de experimentación	61
Tabla A1.1.	Resultados de la Prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la normalidad de los datos	67
Tabla A2.1	Resultados de la Prueba de Levene para evaluar la homocedasticidad de los datos	68

II. ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras	Nombre	Páginas
Figura 2.1.	Estructura de los piranos y furanos (Hernández y Sastre, 1999)	5
Figura 2.2.	Estructura química de la (A) lactosa, (B) maltosa (Peña y col., 2004), (C) sorbitol y (D) xilitol (Primo, 2007)	7
Figura 2.3.	Molécula de glucosa (Voet y col., 2009)	7

Figuras	Nombre	Páginas
Figura 2.4.	Producción de energía a partir de la glucosa (Mendoza-Medellín y Torres-Velázquez, 2002)	8
Figura 2.5.	Molécula de fructosa (Voet y col., 2009))	9
Figura 2.6.	Metabolismo de la fructosa en músculo (izquierdo) e hígado (derecho) (Voet y col., 2009)	10
Figura 2.7.	Molécula de sacarosa (Voet y col., 2009)	11
Figura 2.8.	Homeostasis energética: regulación de la ingesta y el gasto energético (Vásquez-Machado y Ulate-Montero, 2010)	13
Figura 2.9.	Consecuencias divergentes de la “ <i>de novo lipogénesis</i> ” (dnl) en tejido adiposo comparado con el tejido del hígado (la llamada <i>non alcoholic fatty liver disease, nafld o nash , non alcoholic steatohepatitis</i>) (Tomado de Herman y Kahn, 2012)	15
Figura 2.10.	Vía de lipogénesis “ <i>de novo</i> ” a partir de glucosa (Cascales-Angosto, 2015, traducida de Herman y Kahn, 2012)	16
Figura 2.11.	Problemas de salud asociados con el síndrome metabólico (Federación Mexicana de Diabetes, 2017)	17
Figura 2.12.	Clasificación de la obesidad de acuerdo con el índice de masa corporal (IMC) por parte de la OMS (2016b)	19
Figura 2.13.	Problemas presentes en la diabetes mellitus tipo II (Guagnelli, 2014)	20
Figura 2.14	Componentes del gasto energético: metabolismo basal, termogénesis asociada con la dieta, termogénesis asociada con la actividad física y termogénesis facultativa (Obregón, 2006)	22
Figura 3.1.	Diagrama de la estrategia experimental seguida en el proyecto	24
Figura A3.1	Curva de crecimiento de ratas estirpe Wistar (RccHan@: Wist) durante 104 semanas (la determinación comienza en la semana 7 de vida y termina en la 113). Media \pm 2 D.E. Adaptada de Envigo (2008) y Envigo (2016a)	73
Figura A4.1	Diagrama de bloques de la disposición de residuos	74
Figura A5.1	Recepción de las ratas en la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA)	76
Figura A5.2	Acomodo de las ratas en la UNEXA de acuerdo con el edulcorante consumido	76
Figura A5.3	Pesaje del alimento consumido por las ratas en la balanza analítica	76
Figura A5.4	Ejemplo del pesaje de edulcorante (fructosa) en la balanza analítica	76
Figura A5.5	Elaboración de soluciones con los edulcorantes calóricos	76

Figuras	Nombre	Páginas
	en matraces aforados	
Figura A5.6	Medición en probetas del volumen de bebida consumido por las ratas	76
Figura A5.7	Identificación de los bebederos por códigos de color	77
Figura A5.8	Lavado de los bebederos en los Laboratorios 301, 302 y 303 del Conjunto E, FQ-UNAM	77
Figura A5.9	Autoclave utilizada para esterilizar los bebederos en el Laboratorio 310 del Conjunto E, FQ-UNAM	77
Figura A5.10	Toma de datos de alimento y bebida consumidos y masa corporal de los especímenes	77
Figura A5.11	Pesaje de las ratas macho en la sala 519 de la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA)	77
Figura A5.12	Pesaje de las ratas hembra en la sala 519 de la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA)	77
Figura A5.13	Cambio de cajas sucias en la sala 519 de la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA)	78
Figura A5.14	Ratas elegidas para la eutanasia en el Laboratorio 301 del Conjunto E, FQ-UNAM	78
Figura A5.15	Mesa de trabajo en la que se llevó a cabo la eutanasia de las ratas	78
Figura A5.16	Adormecimiento de las ratas en la cámara de CO ₂	78
Figura A5.17	Apertura de los cuerpos por parte del M. en C. Gerardo Salas Garrido de la FMVZ de la UNAM	78
Figura A5.18	Obtención de los órganos necesarios por parte del M. en C. Gerardo Salas Garrido de la FMVZ de la UNAM	78
Figura A5.19	Frasco en el que se recolectaron y guardaron órganos importantes para siguientes proyectos futuros de investigación	79
Figura A5.20	Ejemplo de pesaje de tejido adiposo retroperitoneal de rata hembra	79
Figura A5.21	Vista de una rata hembra posando para la cámara	79
Figura A5.22	Rata macho durmiendo en su caja	79

II. ÍNDICE DE GRÁFICOS Y DIAGRAMAS

Gráficos		Nombre	Páginas
Gráfico	4.1.	Incremento en masa acumulado de ratas macho durante 165 días de experimentación	34
Gráfico	4.2.	Incremento en masa acumulado de ratas hembra durante 165 días de experimentación	34
Gráfico	4.3.	Alimento consumido por las ratas macho durante los 165 días de experimentación	37
Gráfico	4.4.	Alimento consumido por las ratas hembra durante los 165 días de experimentación	37

Gráficos		Nombre	Páginas
Gráfico	4.5.	Diagrama de cajas y bigotes para alimento ingerido acumulado por ratas macho	39
Gráfico	4.6.	Diagrama de cajas y bigotes para alimento ingerido acumulado por ratas hembra	40
Gráfico	4.7.	Tendencia de consumo de bebida en ratas macho durante 165 días de experimentación	43
Gráfico	4.8.	Tendencia de consumo de bebida en ratas hembra durante 165 días de experimentación	43
Gráfico	4.9.	Diagrama de cajas y bigotes para bebida ingerida acumulada por las ratas macho	44
Gráfico	4.10.	Diagrama de cajas y bigotes para bebida ingerida acumulada por las ratas hembra	45
Gráfico	4.11.	Ingesta energética diaria de ratas macho durante 165 días de experimentación	49
Gráfico	4.12.	Ingesta energética diaria de las ratas hembra durante 165 días de experimentación	50
Gráfico	4.13.	Diagrama de cajas y bigotes para ingesta energética acumulada de ratas macho	51
Gráfico	4.14.	Diagrama de cajas y bigotes para ingesta energética acumulada de ratas hembra	51
Gráfico	4.15.	Diagrama de cajas y bigotes para masa de tejido adiposo de ratas macho y ratas hembra del grupo basal	55
Gráfico	4.16.	Relación masa del tejido adiposo (g) / masa de la rata (g) para ratas macho y hembra después de los 165 días de experimentación	56
Gráfico	4.17.	Diagrama de cajas y bigotes para masa del tejido adiposos de las ratas macho después de los 165 días de experimentación	57
Gráfico	4.18.	Diagrama de cajas y bigotes para masa del tejido adiposo de las ratas hembra después de los 165 días de experimentación	59

IV. GLOSARIO DE TÉRMINOS

TÉRMINO	SIGNIFICADO
<i>Ad libitum</i>	Expresión en latín que significa a placer, a voluntad
Adipocitos	Células presentes en el tejido adiposo que además de ser almacén energético tiene alta capacidad enzimática y sintetiza ácidos grasos
Aditivo	Cualquier sustancia que no se consume por sí misma como alimento ni se usa como ingrediente básico y se añaden a los alimentos para mantener o mejorar su inocuidad, su frescura, su sabor, su textura o su aspecto

TÉRMINO	SIGNIFICADO
Agua potable	Aquella que no contiene contaminantes objetables, ya sean químicos o agentes infecciosos que no causa efectos nocivos al ser humano y cumple con las características requeridas por la NOM-127-SSA1-1994
Ayuno	Cese total o parcial de la ingesta calórica
Diabetes	Enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas produce insulina insuficiente o el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce
Diglúcido (disacárido)	Compuesto resultado de la formación de un enlace glucosídico entre un grupo reductor de un monoglúcido con cualquier grupo hidroxilo de otro (ejemplo: sacarosa)
Edulcorante	Aditivo alimentario agregado a los alimentos con la finalidad de dar sabor, sensación de dulzura y originalmente proveer de una fuente de energía
Endotelio	Monocapa de células endoteliales que forma la superficie interna de los vasos sanguíneos. Es una barrera altamente selectiva y un órgano metabólicamente activo con un papel crucial en la homeostasis vascular
Espécimen	Muestra, modelo, ejemplar, normalmente con las características de su especie muy bien definidas
Esterilización	Técnica de saneamiento cuya finalidad es la destrucción de toda forma de vida, aniquilando todos los microorganismos, tanto patógenos como no patógenos, incluidas sus formas esporuladas, altamente resistentes
Estudentizado	En estadística, cuando una medida sigue o se obtiene de una distribución t-Student
Eutanasia	Intervención voluntaria para acelerar la muerte de un ser vivo evitando sufrimiento o dolor
Falacia	Del latín <i>fallacia</i> . 1. f. Engaño, fraude o mentira con que se intenta dañar a alguien. 2. f. Hábito de emplear falsedades en daño ajeno (https://dle.rae.es/falacia?m=form)
Fructosa	Glúcido con la misma cantidad de carbono, hidrógeno y oxígeno que la molécula de glucosa, pero con diferente estructura. Por los enormes subsidios que los EE. UU. dan a sus agricultores de maíz, el almidón obtenido de este es transformado químicamente a mieles fructosadas que son ampliamente usados en la industria confitera y de bebidas endulzadas
Glucógeno	Macromolécula de estructura ramificada formada por los excedentes de glucosa en el organismo que tiene masas moleculares de diez millones de daltones (Estructura del glucógeno, www3.uah.es)
Glucólisis	Vía catabólica en la que la glucosa se transforma en dos moléculas de piruvato, ATP y NADH ⁺ H ⁺
Glucosa	Debido a este hidrato de carbono, cuya fórmula es C ₆ H ₁₂ O ₆ ,

TÉRMINO	SIGNIFICADO
	se denomina glúcidos a los compuestos que tienen C, H y O. Es el glúcido por excelencia que dimerizado, oligomerizado y polimerizado forma una enorme cantidad de compuestos que se encuentra naturalmente en los alimentos y se ocupa industrialmente en productos de confitería, panificación y en bebidas endulzadas
Grelina	Hormona secretada principalmente en el estómago que regula la motilidad y secreción ácida gástrica, metabolismo lipídico y de la glucosa, secreción pancreática, aumenta el apetito y la ingesta alimentaria
Grosso modo	Expresión en latín que significa 'aproximadamente', 'a grandes rasgos' o 'sin entrar en detalles'. Se conforma con las palabras, en ablativo, grossus , que significa 'grueso' o 'burdo', y modo , que podría traducirse como 'manera'. Literalmente, vendría a significar 'de manera burda'
Homeostasis energética	Conjunto de procesos fisiológicos que se llevan a cabo en el organismo para mantener un balance energético correcto
Homeotermia	Proceso mediante el cual los organismos mantienen su temperatura corporal casi constante a pesar de las fluctuaciones ambientales
Innato	Del lat. <i>innātus</i> , part. pas. de <i>innasci</i> 'nacer en', 'producirse'. 1. adj. Connatural y como nacido con la persona misma (https://dle.rae.es/innato?m=form)
Insulina	Hormona secretada por las células beta del páncreas principalmente en respuesta a la presencia de glucosa en la sangre y otras sustancias contenidas en los alimentos
Isocalórica	Que con la misma masa posee la misma cantidad de calorías que otro
Isoproteica	Que con la misma masa posee la misma cantidad de proteínas que otro
Leptina	Hormona sintetizada en el tejido adiposo que estimula una zona en el hipotálamo enviando una señal de que se cuenta con el tejido adiposo suficiente, inhibiendo la ingesta excesiva de nutrientes de los alimentos y aumentando el gasto energético
Lipogénesis	Serie de reacciones bioquímicas que se dan cuando hay un exceso de ingesta de nutrientes en el organismo y que terminan con la síntesis de ácidos grasos
Masa	Magnitud física fundamental que indica la cantidad de materia contenida en un cuerpo, su unidad de medida en el Sistema Internacional de Unidades es el kilogramo (kg)
Monoglúcido (Antes monosacárido)	Carbohidratos de baja masa molecular compuestos de entre tres y ocho átomos de carbono (solamente dos provienen de la sacarosa: la fructosa y la glucosa por ello la tendencia es ya no llamarlos sacáridos sino glúcidos)

TÉRMINO	SIGNIFICADO
Obesidad	Acumulación excesiva de grasa corporal, específicamente tejido adiposo blanco, que afecta negativamente el metabolismo y la salud
Oligoglúcido (Antes oligosacárido)	Polímeros de hasta 20 unidades de monosacáridos unidos mediante enlaces glucosídicos
Peso	Es una magnitud vectorial que representa una fuerza que depende de la atracción gravitacional. En términos de física clásica el peso es la fuerza de atracción que un campo gravitacional aplica sobre un cuerpo. Esta magnitud se mide en Newton (N). Es correcto decir "peso en esta báscula 60 kg fuerza o kilopondios" pero incorrecto decir "mi peso es de 60kg). Esto último debe decirse "mi masa (corporal) es de 60 kg o, en todo caso "mi peso en la Tierra es de 60kg fuerza o kilopondio(s) o 588 N"
Poder edulcorante	Grado de dulzor de las moléculas en relación con la sacarosa
Poiqiloterma	Incapacidad de regulación de la temperatura de un organismo mediante mecanismos reguladores internos independientemente de la temperatura ambiental
Poliglúcido (Antes polisacárido)	Moléculas formadas por la unión de muchas moléculas de monosacáridos entre sí. Se dividen en homopolisacáridos, cuando los monosacáridos que lo forman son iguales y heteropolisacáridos cuando son diferentes
Popote	Del náhuatl <i>popotl</i> . 1. m. Paja semejante al bálago, aunque su caña es más corta y el color tira a dorado, usada en México para hacer escobas. 2. m. Méx. Pajilla para sorber líquidos (https://dle.rae.es/popote?m=form)
Refresco	Nombre dado en las zonas centro y sur de México a las bebidas carbonatadas no alcohólicas. En el norte de México se conocen como sodas por la adición del CO ₂ que forma bicarbonatos en el líquido (<i>soda</i> en inglés)
Resolución	Menor incremento de la variable bajo medición que puede ser detectado con certidumbre por un instrumento
Sacarosa	Diglúcido formado por una molécula de glucosa y una de fructosa unidas mediante un enlace glucosídico. Es considerado el edulcorante más utilizado en el mundo y se conoce con el nombre común de "azúcar de mesa"
Síndrome metabólico	Combinación de alteraciones metabólicas que desencadena en problemas de salud como hipertensión, diabetes <i>mellitus</i> tipo II, exceso de masa corporal, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, entre otros.
Triacilglicéridos o triglicéridos	También denominados grasas neutras, son ésteres de glicerol sin carga eléctrica cuya función es actuar como compuestos de energía altamente concentrada. Los tres grupos hidroxilo del glicerol están esterificados con ácidos grasos

V. ABREVIATURAS, SIGLAS Y UNIDADES

Abreviaturas / Siglas	Significado
ADN/DNA	Ácido desoxirribonucleico / <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ANOVA	Análisis de varianza en inglés (<i>Analysis of variance</i>)
ARN/RNA	Ácido ribonucleico / <i>Ribonucleic Acid</i>
ATP	Adenosín trifosfato
DE	Equivalentes de dextrosa (en inglés: <i>Dextrose Equivalent</i>)
DOF	Diario Oficial de la Federación (México)
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (México)
FQ	Facultad de Química
GRAS	Generalmente reconocido como seguro (en inglés: <i>Generally Recognized as Safe</i>)
IMC	Índice de masa corporal. Es un indicador simple utilizado por la Organización Mundial de la Salud para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos por medio de una relación entre el "peso" (que debería ser la masa) en kilogramos y la talla en metros (kg/m ²)
NOM	Norma Oficial Mexicana
OMS/WHO	Organización Mundial de la Salud / <i>World Health Organization</i>
ONU	Organización de las Naciones Unidas
P	Parámetro para los análisis estadísticos (0.05)
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. En el sexenio iniciado en 2018, sus siglas son SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural) (México)
TAG	Triacilglicéridos producidos por consumo excesivo de fructosa
UCP	Proteína desacoplante (por <i>UnCoupling Protein</i> , en inglés)
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
UNEXA	Unidad de Experimentación Animal
UNICEF	Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (en inglés <i>United Nations International Children's Emergency Fund</i>)
UCP	Proteína desacoplante (<i>UnCoupling Protein</i> , por sus siglas en inglés) para la termogénesis realizada en el organismo por el tejido adiposo "marrón" o café o pardo

UNIDADES	
°C	Grado Celsius
G	Unidad de masa en gramos
mL	Unidad de volumen en mililitros
kcal	Unidad de energía en kilocaloría
kJ	Unidad de energía en kilojoule

Nota:

Esta tesis usa el punto decimal (DOF, 2009), así como los símbolos de porcentaje y grados Celsius junto al guarismo respectivo

VI. RESUMEN

Los aditivos alimentarios son utilizados para la producción y satisfacción de las demandas alimenticias de los consumidores, pero en ciertos casos, pueden producir daños a la salud si son consumidos en exceso. Los edulcorantes han sido asociados con el desarrollo de ciertas enfermedades como son, el exceso de masa corporal, la obesidad, la diabetes mellitus tipo II y genéricamente el síndrome metabólico. Debido a que en los últimos años se ha incrementado de manera alarmante el padecimiento de dichas enfermedades a nivel mundial, surge la preocupación por conocer el efecto de estos compuestos utilizados en alimentos procesados y en bebidas endulzadas que son consumidas frecuentemente por la población mundial. En este estudio, que abarcó 165 días, se probó el efecto sobre los patrones de ganancia de masa corporal, el consumo de alimento y bebida y el cálculo de la ingesta energética de ratas macho y ratas hembra de la cepa Wistar que fueron divididas en cuatro grupos de estudio, cada uno de ellos con 10 ratas macho y con 10 ratas hembra a los que se les suministraron los siguientes grupos de edulcorantes calóricos con los porcentajes encontrados habitualmente en las bebidas gaseosas conocidas como refrescos: Un grupo bebió agua potable durante todo el periodo de experimentación, el grupo denominado glucosa consumió una solución al 14% de glucosa que aportaba 0.56 kcal/mL, un grupo llamado fructosa bebió una solución al 7% con un aporte de 0.28 kcal/mL de este edulcorante y, finalmente, el grupo de sacarosa bebió una solución al 10% con un aporte calórico de 0.4 kcal/mL. Las ratas, recién destetadas, se recibieron en la sala 519 de la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA) en el Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM con una masa corporal entre 30-60 g y se mantuvieron durante los 165 días de estudio con periodos de luz/oscuridad de 12 horas, con una temperatura promedio controlada de 20°C y una humedad relativa del aire también controlada. Diariamente se les administraron comida y bebida fresca *ad libitum*. Al final del periodo de experimentación, se realizó un análisis estadístico con el programa Statgraphics Centurion XVI de los datos obtenidos encontrándose que el género del animal presentó un efecto significativo sobre todos los parámetros evaluados. El efecto del consumo de los diferentes edulcorantes calóricos no fue significativo. Para el incremento en masa corporal no se encontró alguna diferencia significativa dependiendo del tipo de edulcorante consumido para ambos géneros. Sin embargo, la tendencia de consumo presentada fue fructosa > sacarosa > glucosa > control para ratas macho y fructosa > glucosa > sacarosa > control para ratas hembra. En cuanto a la cantidad de alimento consumido no se encontraron diferencias significativas dependiendo del tipo de edulcorante consumido por género, siendo la tendencia de consumo para ratas macho y hembra por igual de la siguiente forma: control > fructosa > sacarosa > glucosa. En cuanto el consumo de bebida con el edulcorante ingerido tampoco hubieron diferencias significativas dependiendo del tipo de edulcorante consumido por género, sin embargo la tendencia seguida fueron por grupos de la siguiente manera: sacarosa > glucosa > fructosa > control para ratas macho y glucosa > sacarosa > fructosa > control para ratas hembra. Para la ingesta

energética calculada considerando el consumo de bebida y de alimento de los especímenes se encontró que, tanto para las ratas macho como para las hembras, hubieron diferencias significativas dependiendo del tipo de edulcorante consumido, siendo el grupo con la mayor cantidad calculada el de fructosa, seguido del de glucosa, luego el de sacarosa y por último el control en el caso de las ratas macho y de glucosa > sacarosa > fructosa > control para las ratas hembra. Finalmente, al comparar estos resultados con los obtenidos en el incremento de masa corporal se evidenció que la ingesta energética no tuvo un efecto determinante sobre el incremento de masa, justamente porque realizaban actividad física de manera correcta y su alimentación se encontraba autobalanceada. Por tanto, deberá buscarse otra causal para la obesidad infantil y juvenil si es que se extrapolaran los resultados de estos experimentos en este animal modelo a los seres humanos.

Palabras clave: Ratas de la estirpe Wistar, edulcorantes calóricos; glucosa, fructosa, sacarosa, etapa de infancia y juventud, lipogénesis, síndrome metabólico

CAPÍTULO 1

PROBLEMÁTICA

1.1. INTRODUCCIÓN

Los carbohidratos son la fuente principal de energía para casi todos los habitantes del planeta. Son compuestos que contienen carbono, hidrógeno y oxígeno que al metabolizarse producen energía y liberan dióxido de carbono y agua. Dentro de los carbohidratos están los monoglúcidos, antes conocidos como monosacáridos ya que no todos están relacionados con la sacarosa: glucosa, fructosa, galactosa, etc.; los diglúcidos, como la sacarosa y lactosa y los poliglúcidos como el almidón y la celulosa (Latham, 2002). Deben constituir por lo menos el 50% del aporte total calórico de la dieta, ya que estos forman el glucógeno que es la reserva principal de energía del cuerpo favoreciendo la formación de múltiples compuestos de alta importancia en el organismo como la ribosa y desoxirribosa del ARN y DNA (Thews y col., 1983).

Algunos de estos carbohidratos tienen un poder edulcorante, es decir, aportan un gusto dulce si se adicionan a los alimentos. Uno de ellos es la fructosa, que originalmente se obtenía de manera natural de las frutas. También se conoce como levulosa y en la industria es obtenida de mieles o jarabes concentrados con hasta el 90% de este carbohidrato mediante la hidrólisis del almidón de maíz y la inversión parcial de la glucosa a fructosa. La fructosa se metaboliza en el hígado, riñón e intestino delgado, asociando su consumo con la alta producción y acumulación de triacilglicéridos (Castillo y col., 2003). Estos jarabes son empleados como edulcorantes sustitutos de la sacarosa por su bajo costo debido a que provienen de maíz 100% subsidiado por el gobierno estadounidense, por su alta solubilidad y por su mayor poder edulcorante. Estas últimas características le permiten ser incorporada fácilmente en forma de mieles fructosadas de maíz a los productos

(alimentos y bebidas endulzadas no alcohólicas) realizando su sabor, color y estabilidad (Alonso, 2010).

La glucosa, que se encuentra presente en frutas y vegetales y se conoce también como dextrosa, se produce industrialmente a partir de la hidrólisis enzimática del almidón. Se comercializa en forma de jarabe con diferentes grados de “equivalentes de dextrosa” (*DE*, por sus siglas en inglés) para su uso en productos de confitería y bollería, así como también en bebidas refrescantes y otros productos alimenticios. Es la principal materia prima para la producción de energía, por lo que se absorbe en todas las células del organismo mediante transportadores específicos (Plaza-Díaz y col., 2013).

La sacarosa es el edulcorante energético y conservador más antiguo, junto con la sal. Es utilizado actualmente en la industria alimentaria como edulcorante sin considerar sus efectos conservadores. Es un diglúcido (antes disacárido) formado por una molécula de glucosa y una de fructosa unidas por un enlace glucosídico. Es el estándar de sabor dulce en los alimentos con un poder edulcorante de 1, siendo obtenida a partir de la caña de azúcar (Castillo y col., 2003) y la remolacha (Bos-Klomp, 1995; Klomp y col., 1995). Tiene una denominación *GRAS* (*Generally Recognized As Safe*) en la legislación estadounidense y es ampliamente utilizado en una gran variedad de alimentos y bebidas como refrescos, bebidas de fruta, productos horneados, caramelos, mermeladas, alimentos enlatados y yogurt (Alonso, 2010), no solamente por su sabor sino principalmente por su función como agente conservador ya que impide la proliferación de microorganismos debido a la presión osmótica que provoca.

El uso recurrente de jarabes glucosados y fructosados provenientes de Estados Unidos en alimentos se debe a su bajo costo por los subsidios al maíz de ese país, en comparación con la sacarosa (azúcar) producida en México, cuya producción alcanza más de 5 millones de toneladas al año (García-Chávez y col., 2019). Para la mayoría de los mexicanos que no tienen los recursos necesarios para mantener una dieta correcta a buen precio y de buena calidad, los productos baratos elaborados a partir de este tipo de jarabes fructosados han resultado ser una opción de consumo, pero a la larga promueven el desarrollo de una serie de problemas de salud como el

exceso de masa corporal, la obesidad y la diabetes mellitus, además de la hipertrigliceridemia, pues se consumen de manera descontrolada y vienen “escondidas” en los alimentos etiquetados conteniendo “azúcares” lo que hace que las personas creen que tiene azúcar y no mieles fructosadas. Según estadísticas de la UNICEF (2018), México ocupa el primer lugar mundial en obesidad infantil y el segundo en obesidad en adultos y esta entidad relaciona el problema con un alto consumo de alimentos ricos en carbohidratos y grasas y con la falta de actividad física. Según la Federación Mexicana de Diabetes (2017), esta excesiva ganancia de masa corporal está ligada con el 90% de los casos de diabetes mellitus, siendo la segunda causa de muerte y posicionando a México como uno de los 10 países con un mayor número de personas que viven con diabetes (Rojas-Martínez y col., 2018). Dado el contexto anterior y siguiendo la línea de investigación sobre los efectos del consumo crónico de edulcorantes calóricos e hipocalóricos, en esta parte de esa investigación se estudió el efecto de los tres edulcorantes calóricos más empleados en la industria de alimentos y bebidas no alcohólicas en concentraciones similares a las que contienen las bebidas no alcohólicas comerciales endulzadas empleando un modelo animal.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del consumo crónico "*ad libitum*" de los edulcorantes calóricos: glucosa, fructosa y sacarosa sobre los patrones de ganancia de masa corporal, el alimento consumido, la bebida ingerida y el consumo energético calculado en ratas Wistar contra un grupo control bebiendo agua potable sin edulcorante durante 165 días de experimentación después de su destete.

1.2.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar los efectos de la ingesta de glucosa al 14% (aporte de 0.56 kcal/mL), fructosa al 7% (aporte calórico 0.28 kcal/mL) y sacarosa al 10% (aporte de 0.47 kcal/mL) sobre los patrones de ganancia de masa corporal, el consumo de alimentos y bebida y la ingesta energética calculada resultante para ratas

hembra y macho de la estirpe Wistar y su comparación con un grupo control que solamente consumió agua potable

- Analizar la relación existente entre cada una de las variables evaluadas y los edulcorantes suministrados a las ratas de la estirpe Wistar
- Evaluar el efecto del consumo de los edulcorantes en el desarrollo de tejido adiposo relacionándolo con uno de los efectos de las enfermedades metabólicas: exceso de masa corporal y obesidad
- Realizar el análisis estadístico de los datos mediante el uso del paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI y Minitab 17

1.3. HIPÓTESIS

La ganancia de masa corporal de las ratas de la cepa Wistar medida durante 165 días de experimentación después del destete dependerá del tipo de edulcorante consumido y del género de los animales. Así mismo, el tipo de edulcorante consumido repercutirá en los patrones de alimentación y bebida de los animales comparándolos con un grupo control que no los consume. El consumo de las bebidas con edulcorante tendrá un efecto positivo y mayor sobre el desarrollo de tejido adiposo de las ratas macho y hembra al compararlo con el grupo control.

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1. CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos son los compuestos que constituyen las tres cuartas partes del mundo biológico y alrededor del 80% del aporte calórico de la humanidad. El término se deriva del alemán “*Kohlenhydrate*”, el cual expresa la composición elemental de estos compuestos: carbono, hidrógeno y oxígeno y tienen una forma empírica $(\text{CH}_2\text{O})_n$ (Coultrate, 2002).

Una de las clasificaciones que se tienen es con el número de unidades que los conforman:

Los llamados desde hace unos años *monosacáridos*, aunque no todos provienen de la sacarosa y, por tanto, el nombre no es correcto, por lo que se ha dado en designarlos **monoglúcidos**, son compuestos de relativamente baja masa molecular, de entre tres y ocho átomos de carbono, siendo los más comunes aquellos que tienen de cinco a seis carbonos. En la nomenclatura se le agrega el sufijo -osa cuando el carbohidrato tiene un grupo carbonilo, responsable de la acción reductora de estos glúcidos y, en los demás carbonos, hay grupos hidroxilo. En ocasiones, el grupo carbonilo reacciona con uno de los grupos alcohólicos propios para formar un grupo hemiacetal o cetal que da paso a estructuras cíclicas de 5 átomos de carbono similares al furano (Figura 2.1), como la fructosa, o de seis átomos similares al pirano, como la glucosa (Fennema, 1993).

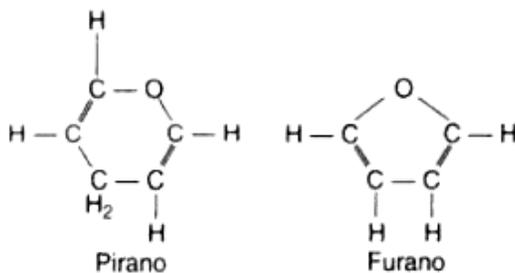


Figura 2.1. Estructura de los piranos y furanos (Hernández y Sastre, 1999)

La formación de un enlace glucosídico entre un grupo reductor de un monoglúcido con cualquiera de los grupos hidroxilo de otro forman un diglúcido. Este puede ser homogéneo o heterogéneo dependiendo de la composición de los monómeros. La sacarosa es un ejemplo de oligoglúcido heterogéneo ya que está compuesto por la glucosa y la fructosa (Coultate, 2002). La lactosa es otro pero es homogéneo puesto que está formado por dos moléculas de glucosa.

2.2. EDULCORANTES

Los edulcorantes son aditivos alimentarios agregados a los alimentos con diferentes finalidades como las de brindar protección contra microorganismos a través del aumento de la presión osmótica, de dar sabor, de dar una sensación de dulzura y de proveer de una fuente de energía (Msagati, 2013).

El grado de dulzor de las moléculas, conocido como poder edulcorante, varía dependiendo del mono o diglúcido del que se trate. La sacarosa es el carbohidrato de referencia y, por lo tanto, tiene un poder edulcorante de 100, mientras que el de la glucosa es de 74 y el de la fructosa es de 173, por lo que este último, se prefiere sobre los otros dos para la elaboración de productos endulzados como las bebidas no alcohólicas (Armstrong y Bennett, 1982).

2.2.1. EDULCORANTES CALÓRICOS

Los edulcorantes calóricos o también llamados naturales son un conjunto de carbohidratos, compuestos polihidroxialdehídos y polihidroxicetonas, que se encuentran en alimentos de la dieta básica humana como frutos, verduras y hortalizas (Gil-Hernández, 2010). Este grupo comprende glúcidos como azúcar (sacarosa), jarabes de diferentes orígenes, dextrosa, lactosa, maltosa, glúcidos invertidos y los polioles como el sorbitol, manitol, xilitol, etc. (Velázquez, 2006). Las estructuras químicas de algunos de estos edulcorantes se muestran en la Figura 2.2. La unidad utilizada para medir el consumo energético en los sistemas vivos es la kilocaloría (kcal), aunque debiera usarse el joule o el kilojoule (kJ). Científicamente

se ha encontrado que 1g de carbohidrato libera 4.1 kcal (Marín, 1988), pero en algunos casos algunos edulcorantes tienen un aporte menor que este valor.

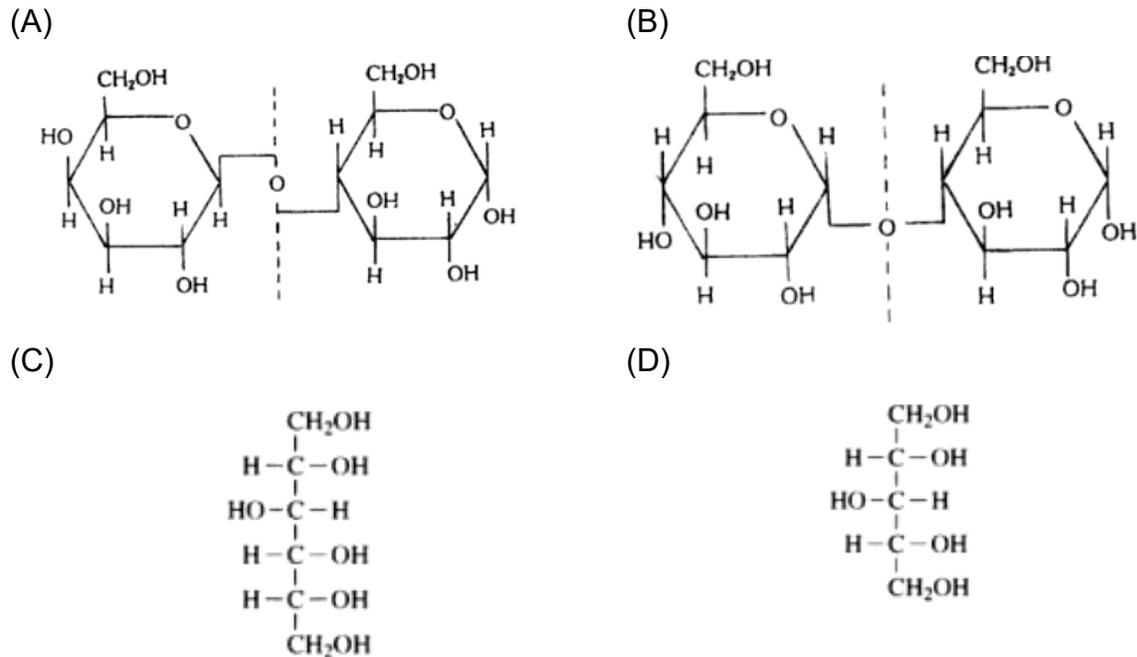


Figura 2.2. Estructura química de la (A) lactosa, (B) maltosa (Peña y col., 2004), (C) sorbitol y (D) xilitol (Primo, 2007)

2.2.1.1. Glucosa

La glucosa (Figura 2.3) es un monoglúcido que se encuentra de forma natural en productos como la miel (31%), uvas y cerezas (7%) y algunas frutas y hortalizas como manzanas, zanahorias, papas y pepinos (1%). De manera industrial se obtiene a partir de la hidrólisis ácida o enzimática del almidón. Su uso industrial se da principalmente en productos de confitería, panificación y bebidas endulzadas (Gil-Hernández, 2010).

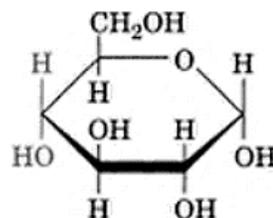


Figura 2.3. Molécula de glucosa (Voet y col., 2009)

La producción de energía a partir de la glucosa se lleva a cabo en varios pasos (Figura 2.4); a través de la glucólisis, que es una vía catabólica. La glucosa es fragmentada en dos moléculas de piruvato, ATP y $\text{NADH}+\text{H}^+$. En presencia del oxígeno el piruvato y el $\text{NADH}+\text{H}^+$ van hacia la matriz mitocondrial y, por medio de una vía oxidativa, se convierte en acetil-CoA mediante el complejo de la piruvato deshidrogenasa. Posteriormente, esta molécula es convertida en energía por medio del Ciclo de Krebs y la cadena respiratoria. Bajo estas condiciones, la glucólisis es la única posibilidad de sintetizar ATP de las células animales, pero también da lugar a una serie de compuestos que sirven como esqueletos carbonados para la producción de ácidos grasos u otros compuestos de interés metabólico (Koolman y Röhm, 2004).

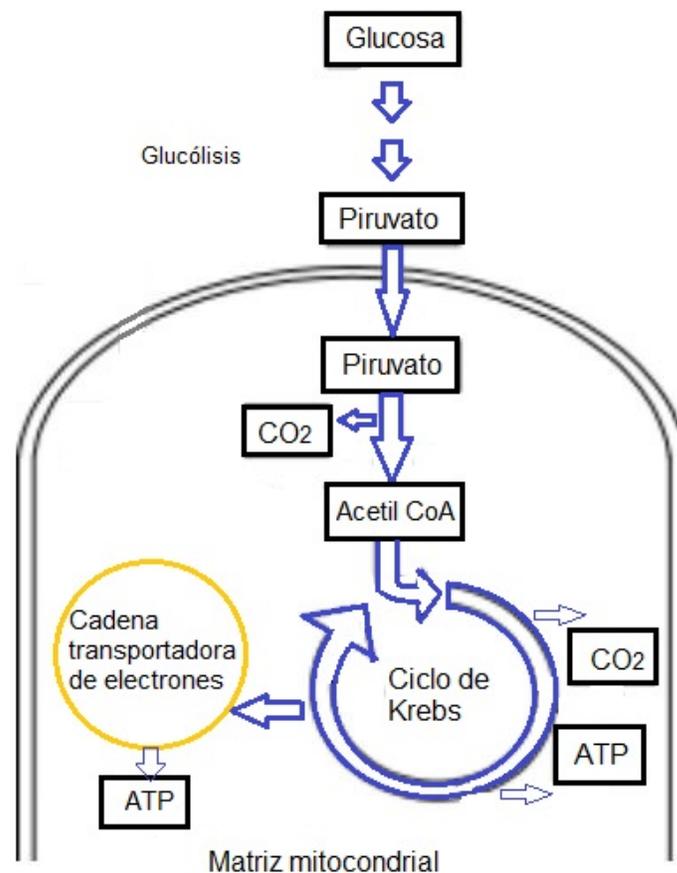


Figura 2.4. Producción de energía a partir de glucosa (Mendoza-Medellín y Torres-Velázquez, 2002)

En el ser humano, los monoglúcidos de la dieta son absorbidos en el duodeno y en la parte superior del yeyuno en el intestino delgado. En particular, la glucosa se transporta a través de la membrana celular, en el epitelio del intestino delgado y el epitelio tubular renal (Castrejón y col., 2007).

La bebida suministrada a las ratas en estudio tuvo una concentración de 14% de glucosa, similar a lo reportado en las etiquetas de las bebidas comerciales, por lo que el aporte calórico fue de 0.56 kcal/mL.

2.2.1.2. Fructosa

La fructosa (Figura 2.5) es un monoglúcido que se encuentra de manera natural principalmente en frutos como cerezas (6%), fresas (2%) y melocotón (1%) además de encontrarse en vegetales como el jitomate, las zanahorias y el maíz. Al ser el glúcido natural más soluble y con un poder edulcorante 1.73 veces mayor a la sacarosa, se emplea ampliamente en la elaboración de jarabes para la industria confitera y de bebidas endulzadas siendo considerado como la fuente principal de combustible en las dietas ricas en glúcidos (Gil-Hernández, 2010).

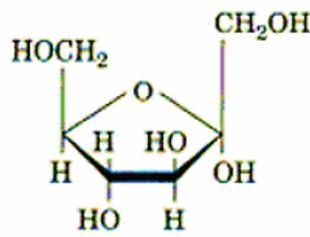


Figura 2.5. Molécula de fructosa (Voet y col., 2009)

El metabolismo de la fructosa es llevado a cabo en dos lugares del organismo: en el músculo y el hígado (Figura 2.6). En el músculo se metaboliza más rápido ya que la entrada de esta molécula a la glucólisis se lleva a cabo en un solo paso después de una fosforilación, mientras que, en el hígado, se requieren 6 enzimas que forman varios intermediarios antes de llevar a cabo la glucólisis tal como se muestra en la Figura 2.6 (Voet y col., 2009). Esto demuestra que el metabolismo de la fructosa es de menor eficiencia energética en comparación con el de la glucosa (Tappy y col., 2014). La acetil CoA, proveniente de esta degradación, provee de carbonos

7%, por lo cual, el aporte energético era de 0.28 kcal/mL, valor menor en comparación con el del aportado con la bebida de glucosa que es menos dulce y por ello se adiciona en mayor cantidad para tener isodulzura en la bebida suministrada aunque no sea isocalórica.

2.2.1.3. Sacarosa

La sacarosa (Figura 2.7) es un diglúcido formado por una molécula de glucosa y una de fructosa, unidas mediante un enlace glucosídico (β -D-fructofuronosil- α -D-glucopiranososa). Se puede encontrar ampliamente en frutos como durazno (7%), manzanas (4%), betabel (6-20%), zanahorias (4%) y maíz (12-17%). Es el edulcorante más utilizado en el mundo, tanto como azúcar de mesa como adicionado a refrescos, productos de pastelería, jugos, salsas, chocolates, etc. (Gil-Hernández, 2010). De manera industrial, se obtiene regularmente de la remolacha y de la caña de azúcar (Bos-Klomp, 1995).

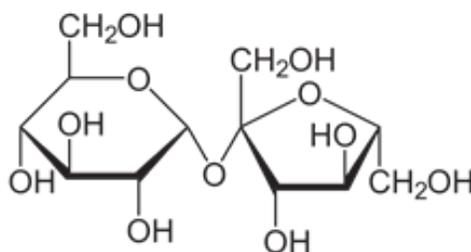


Figura 2.7. Molécula de sacarosa (Voet y col., 2009)

En seres humanos, una vez absorbida, la sacarosa es hidrolizada a nivel intestinal por la enzima sacarasa en sus constituyentes: glucosa y fructosa. La fructosa libre es absorbida por difusión facilitada en el duodeno o el yeyuno y transportada al hígado donde se fosforila y se transforma hasta piruvato y posteriormente se oxida a acetil CoA. La acetil CoA proporciona los carbonos necesarios para sintetizar ácidos grasos, triglicéridos y colesterol (Esquivel-Solís y Gómez-Salas, 2007) mientras que la glucosa sigue la vía glucolítica para generar energía.

La concentración de sacarosa en bebidas comerciales es del 10%, por lo que las bebidas del laboratorio preparadas con la misma concentración aportaron 0.4 kcal/mL.

2.3. HOMEOSTASIS ENERGÉTICA

La homeostasis nutricional supone el conjunto de procesos fisiológicos implicados en los mecanismos de digestión, absorción de los nutrientes, almacenamiento de éstos, así como su utilización y consiguiente gasto cuando proceda (González-Jiménez y Schmidt-Rio-Valle, 2012). El balance energético es la diferencia que existe entre el ingreso de energía (ingesta de alimento) y su egreso (gasto), para mantener un nivel constante de energía almacenada, principalmente en forma de adiposidad (Figura 2.8). Se habla de un balance energético positivo cuando el ingreso de energía supera a su gasto y de un balance negativo cuando ocurre lo contrario. Cuando el ingreso y el egreso son iguales y el grado de adiposidad es constante, manifestado clínicamente por una masa sin cambio, se dice que el sistema se encuentra en equilibrio, independientemente de la cantidad de grasa corporal. La alimentación constituye el ingreso de energía mientras que el gasto está compuesto por tres elementos: 1. gasto energético basal, 2. Gasto energético inducido por la alimentación y 3. Gasto relacionado con el ejercicio (Chiquete y Tolosa, 2013).

A nivel gastrointestinal se han identificado a la leptina e insulina como dos hormonas que regulan la ingesta de alimentos a largo plazo, implicadas en la inducción a la saciedad y cuya síntesis y secreción irá en proporción a la cantidad de comida ingerida (González-Jiménez y Schmidt-Rio-Valle, 2012).

La leptina actúa a nivel de hipotálamo, modulando la ingesta y contrarrestando un potencial balance energético positivo, activando los sistemas efectores catabólicos, activa el sistema nervioso simpático y estimula la actividad productora de calor del tejido adiposo pardo (café o marrón), incrementándose todo el gasto energético corporal y la pérdida de masa. La masa de grasa corporal se determina con el balance entre la síntesis de lípidos y su degradación. Se ha demostrado que la leptina tiene un modo de acción directo en la síntesis y degradación de lípidos. En presencia de la leptina se inhibe la expresión de la acetil CoA carboxilasa en los adipocitos. Esta enzima limita la velocidad de síntesis de los ácidos grasos de cadena corta y es esencial en la conversión de carbohidratos a ácidos grasos y de reservas calóricas como los triacilglicéridos. Además, decrece la re-esterificación de

los ácidos grasos y reduce los efectos lipogénicos de la insulina (Martínez y Savón, 2005). Su concentración en sangre depende de ácidos grasos acumulados en el adipocito. Se han encontrado niveles plasmáticos más elevados en mujeres (González-Jiménez y Schmidt-Rio-Valle, 2012).

La insulina se produce en el páncreas, en las células beta de las islas pancreáticas y, al igual que la leptina, sus niveles son proporcionales a los cambios de adiposidad, aumentando cuando hay un balance energético positivo y disminuyendo en los negativos. Se ha demostrado que la insulina ejerce una función primordial en el sistema nervioso central para incitar la saciedad, aumentar el gasto energético y regular la acción de la leptina (Cintra y col., 2007). La disminución de los niveles a nivel cerebral genera un incremento de la ingesta y por consiguiente una ganancia de masa en el sujeto (González-Jiménez y Schmidt-Rio-Vall, 2012).

Cualquier déficit, exceso o resistencia a su acción, puede conllevar a alteraciones metabólicas importantes con cambios abruptos de masa y la composición corporal. Las respuestas fisiológicas que regulan la ingesta alimentaria pueden variar de acuerdo con el tipo de carbohidrato ingerido. Así como carbohidratos distintos pueden variar la tasa de insulina (Pinheiro y col., 2008). Según Daly (2003), la fructosa provoca mayor saciedad que la glucosa.

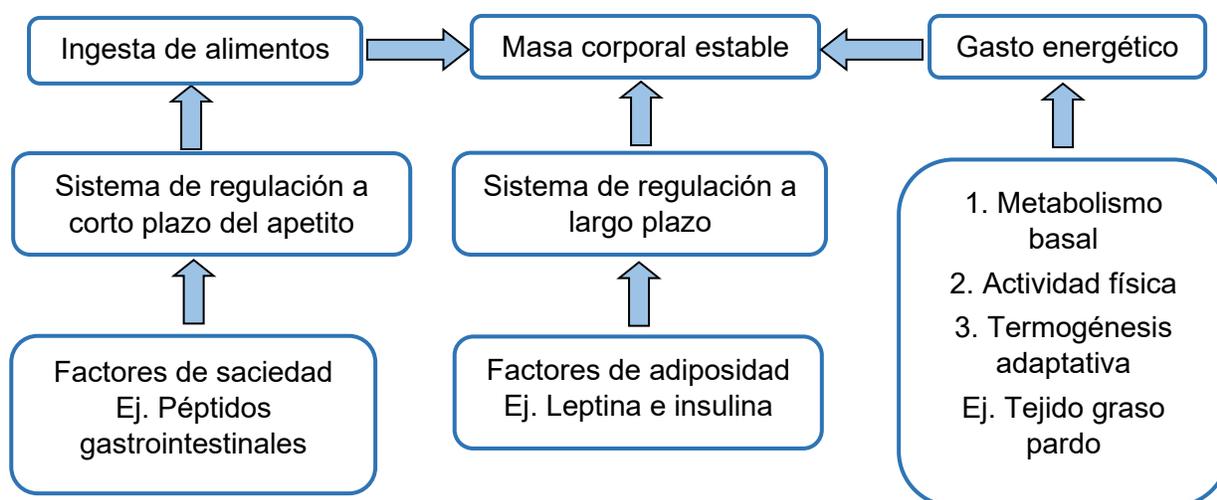


Figura 2.8. Homeostasis energética: regulación de la ingesta y el gasto energético (Vásquez-Machado y Ulate-Montero, 2010)

2.4. LIPOGÉNESIS

La lipogénesis es la serie de reacciones bioquímicas que se dan cuando hay un exceso de ingesta de nutrientes en el organismo (Cordero-Gulá y Verdugo-Silva, 2006), mediante las cuales la acetil CoA, producto intermediario del metabolismo de la glucosa, se convierte en ácidos grasos (Figura 2.9). Se utiliza el exceso de energía procedente del ATP para sintetizar ácidos grasos, los cuales, una vez esterificados con glicerol, forman triacilglicéridos, TAG, que pueden ser eficientemente acumulados en el tejido adiposo en forma de grasa neutra o de reserva (Cascales-Angosto, 2015).

El sistema enzimático para la síntesis de ácidos grasos y que dirige la lipogénesis en el humano no deja libres metabolitos intermediarios, sino que comienza con un sustrato y no se detiene hasta concluir el proceso y liberar el producto final (Cordero-Gulá y Verdugo-Silva, 2006). Se encuentra principalmente en el citoplasma y, aunque presente en muchos tejidos, se encuentra operativo en hígado y en menor grado en tejido adiposo. Este último se divide en visceral y subcutáneo, siendo el primero el órgano principal de almacenamiento de energía en forma de triglicéridos (Cascales-Angosto, 2015; Carvajal-Carvajal, 2015).

La conversión de carbohidratos en lípidos en los seres humanos y en animales se hace porque los lípidos son más densos en energía y son una reserva más eficiente, tomando en cuenta que los carbohidratos aportan 4 kcal/g mientras que los lípidos aportan 9 kcal/g (Herman y Kahn, 2012). Desde el punto de vista evolutivo, la capacidad de almacenar lípidos confiere al organismo una gran ventaja, ya que permite la supervivencia cuando el alimento escasea. Sin embargo, puede desencadenar la creciente epidemia de obesidad y todas las enfermedades asociadas que están ocurriendo actualmente (Cascales-Angosto, 2015). Herman y Kahn (2012) señalan en su interesante artículo que es mucho mejor almacenar los llamados por ellos *DNL* (*de novo* lipogénesis) en el tejido adiposo que en el hígado (Figura 2.9).

Una ingesta elevada de carbohidratos produce una mayor acumulación de grasa en el tejido adiposo, pero el proceso es inhibido por el ayuno o por la presencia de

ácidos grasos poliinsaturados en la dieta, ya que la conversión es menor por la inhibición de la lipogénesis en el tejido adiposo (Carvajal-Carvajal, 2015).

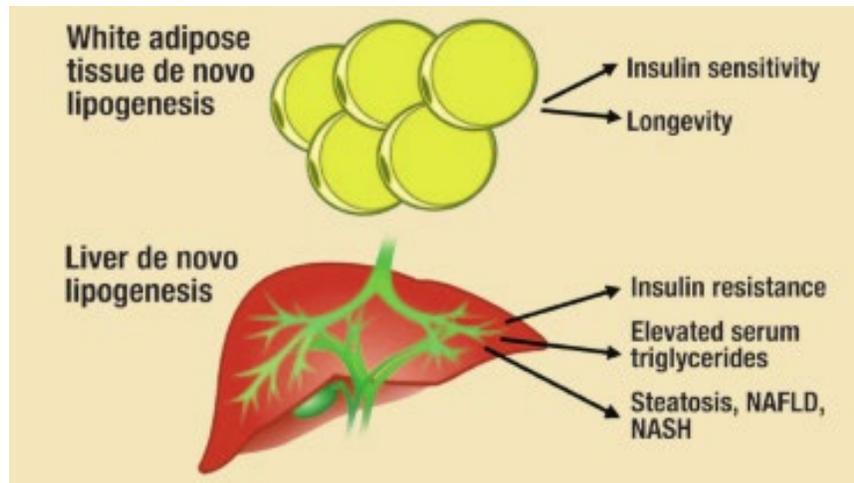
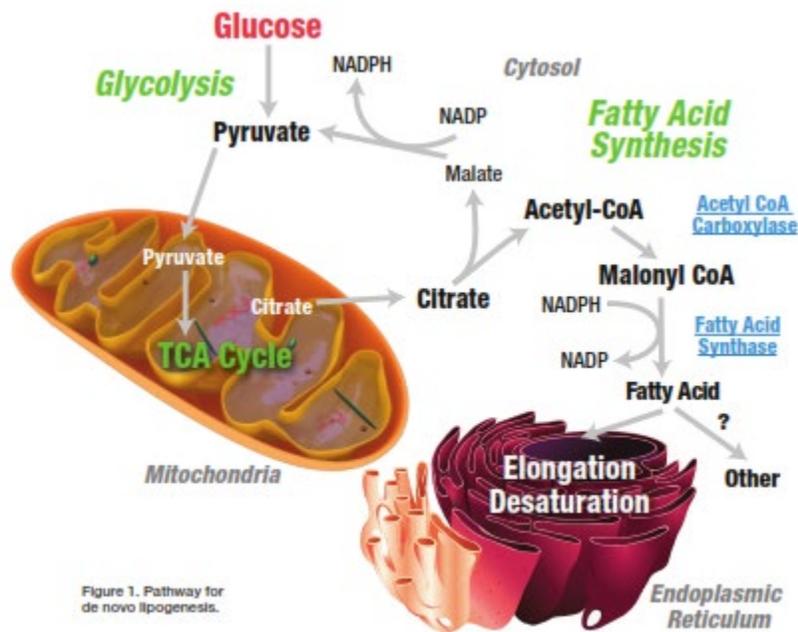


Figura 2.9. Consecuencias divergentes de la “de novo lipogénesis” (DNL) en tejido adiposo comparado con el tejido del hígado (la llamada *non alcoholic fatty liver disease*, NAFLD o NASH, *non alcoholic steatohepatitis*) (Tomada de Herman y Kahn, 2012)

La lipogénesis a partir de glucosa se ejemplifica en la Figura 2.10, donde por medio de la vía del citrato la acetil-CoA que se produce en la mitocondria es convertida en citrato para poder salir al citoplasma (Cordero-Gulá y Verdugo-Silva, 2006). El siguiente paso es la carboxilación de la acetil CoA hasta manitol CoA, catalizada por la enzima clave de la biosíntesis de los ácidos grasos, la acetil CoA carboxilasa. Los ácidos grasos se dirigen entonces al retículo endoplásmico donde se da el alargamiento de la cadena alifática, añadiendo grupos malonil hasta formar palmitato y, por medio de otras reacciones, otros ácidos grasos insaturados y de cadena más larga (Koolman y Röhm, 2004).

En roedores, la fructosa estimula la lipogénesis y conduce a la insulino-resistencia hepática y extrahepática, dislipidemia e hipertensión arterial. En humanos, la alimentación con fructosa a corto plazo aumenta la lipogénesis “de novo” y los niveles de triacilglicéridos sanguíneos, causando la insulino-resistencia hepática. La ingestión de elevadas dosis de fructosa, a través de los jarabes de alta fructosa unidos a dietas “ad libitum”, suponen un factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares y el síndrome metabólico (Cascales-Angosto, 2015).



30

ASBMB Today

February 2012

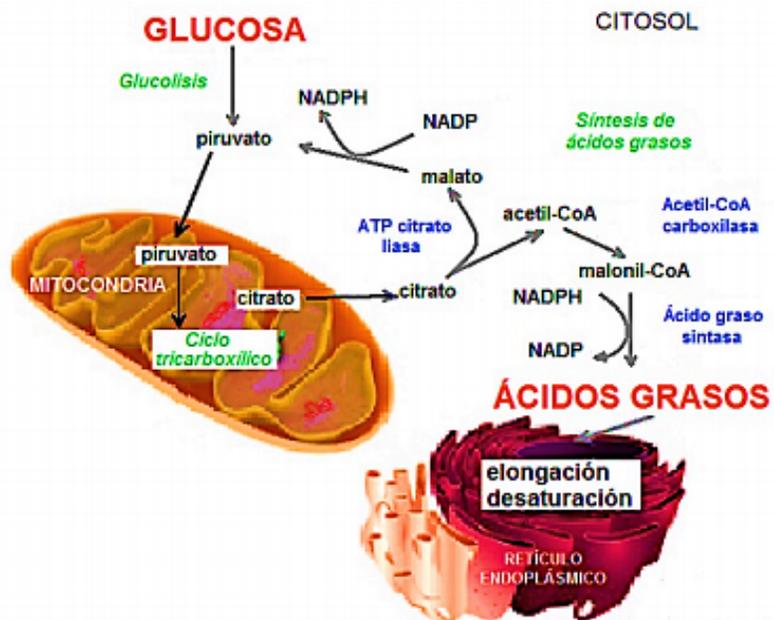


Figura 2.10. Vía de la lipogénesis *de novo* a partir de glucosa (Cascales-Angosto, 2015, traducida de Herman y Kahn, 2012)

2.5. SÍNDROME METABÓLICO

El síndrome metabólico (Figura 2.11) es una combinación de una alteración en el metabolismo de lípidos, hipertensión, diabetes mellitus tipo II y exceso de masa corporal tanto en niños como en adultos (Biesalski y Grimm, 2007). La patogénesis del síndrome metabólico es compleja, ya que participan tanto factores genéticos como ambientales, los cuales influyen tanto sobre el tejido adiposo como en la inmunidad innata. Desde el punto de vista genético, se han asociado una gran variedad de genes al desarrollo del síndrome como los genes reguladores de lipólisis, termogénesis, metabolismo de glucosa, del músculo, etc. (Escobar y Tébar, 2009). El desarrollo es gradual y comienza con hiperinsulinemia combinada con resistencia a la insulina, una alteración moderada del metabolismo de lípidos e hipertensión leve, pero esto se agrava cuando se aumenta la masa corporal. (Biesalski y Grimm, 2007).

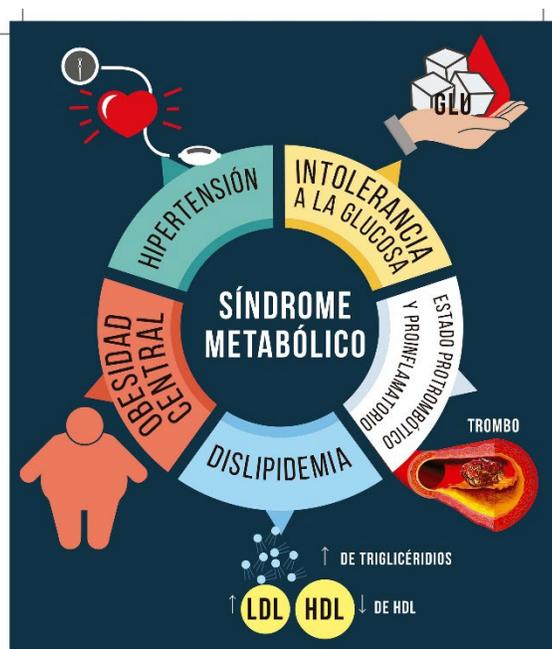


Figura 2.11. Problemas de salud asociados con el síndrome metabólico
(Federación Mexicana de Diabetes, 2017)

La posibilidad de prevenir y tratar este síndrome se basa en un cambio de estilo de vida, disminución de la ingesta de grasa e hidratos de carbono y un aumento de la actividad física (Arce-Vázquez y col., 2006). Se recomienda una dieta hipocalórica y

libre de alimentos y bebidas muy procesados como son las grandes cantidades de hidratos de carbono, como las bebidas endulzadas, panes procesados, comida instantánea, etc. La actividad física estimula la degradación del glucógeno y disminuye la concentración de triglicéridos (Biesalski y Grimm, 2007).

La obesidad desempeña un papel protagonista debido a que el tejido adiposo, sobre todo el visceral o abdominal, libera distintas sustancias como leptina, resistina, etc. que favorecen la aparición de un estado proinflamatorio, resistencia a la insulina y daño endotelial (Escobar y Tébar, 2009).

2.5.1. Exceso de masa corporal y obesidad

El exceso de masa corporal y la obesidad son patologías que se caracterizan por una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. Si bien antes se consideraba un problema propio de los países de ingresos altos, actualmente ambos trastornos aumentan en los países de ingresos bajos y medianos, en particular en los entornos urbanos (OMS, 2016a,b). Sin descartar un posible condicionamiento genético, las causas de su aparición son complejas y sus efectos abarcan un espectro que va desde alteraciones hormonales y metabólicas hasta ortopédicas y psicológicas. La OMS atribuye esta condición a un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas y de igual manera lo asocia a que a nivel mundial se ha dado un aumento en la ingesta de alimentos de alto contenido calórico que son ricos en grasa y un descenso en la actividad física debido a la naturaleza cada vez más sedentaria de muchas formas de trabajo, los nuevos modos de transporte y la creciente urbanización.

En personas adultas, se ha buscado una forma de medir este problema por medio del índice de masa corporal (IMC), el cual proporciona una medida de este problema en la población y aunque no es muy preciso pues es la misma forma para ambos géneros y para los adultos de todas las edades y de todos los grupos humanos (Figura 2.12) da una idea gruesa de lo que ocurre. En el caso de los niños, es necesario tener en cuenta la edad al definir el exceso de masa y la obesidad (WHO, 2018). Es necesario evaluar el desarrollo de exceso de masa corporal a lo largo de la infancia ya que se ha observado una relación positiva de la obesidad infantil con la

morbimortalidad en adultos, así como su prevención a través de un oportuno diagnóstico (Escobar y Tébar, 2009).

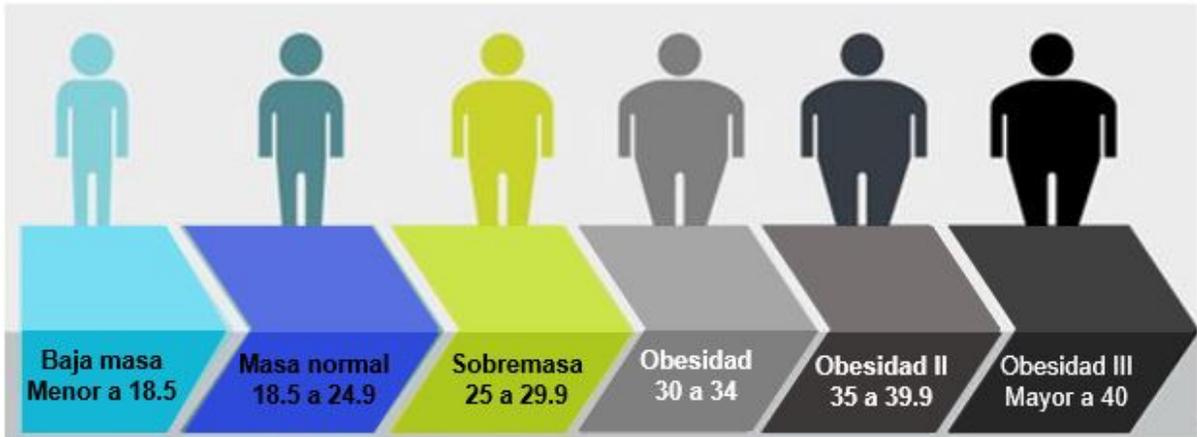


Figura 2.12. Clasificación de la obesidad de acuerdo con el índice de masa corporal (IMC) por parte de la OMS (2016b, modificada ya que la masa y el peso no son sinónimos -Ver Glosario-)

De acuerdo con datos obtenidos por la Organización Mundial de la Salud desde 1975, la obesidad se ha triplicado en todo el mundo. En 2016 más de 1900 millones de adultos (39%) de 18 o más años tenían un exceso de masa corporal, de los cuales 650 millones eran obesos (13%). En ese mismo año 41 millones de niños menores de cinco años tenían exceso de masa corporal o eran obesos (OMS, 2016a,b) lo cual representa un gran problema de salud a nivel mundial que ha llegado hasta México. Según datos del 2018 de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, ENSANUT (INEGI, 2018), el 22.2% de la población encuestada de 0-4 años se identifica con riesgo de presentar un exceso de masa corporal mientras que un 8.4% ya lo sufre. En la población encuestada de 12-19 años tanto para hombres como mujeres tuvo un aumento en el porcentaje de exceso de masa corporal y obesidad con relación al año 2012 para los hombres el aumento fue de 33.2% a 35.8% aunque no se señala si fueron las mismas personas encuestadas en 2012 y luego en 2018. Para las mujeres pasó de 35.8% a 41.1% con la misma duda sobre si fueron las mismas personas. Por último, en 2018 el porcentaje de adultos encuestados de 20 años o más con exceso de masa corporal y obesidad fue de 75.2% (39.1% exceso de masa corporal y 36.1% obesidad) porcentaje que, en 2012,

fue de 71.3% lo que se puede entender como que 3 de cada 4 adultos mayores de 20 años presentan este problema de nutrición (INEGI, 2018).

2.5.2. Diabetes mellitus Tipo II

La diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce suficiente insulina o cuando el organismo no la utiliza eficazmente (Figura 2.13).

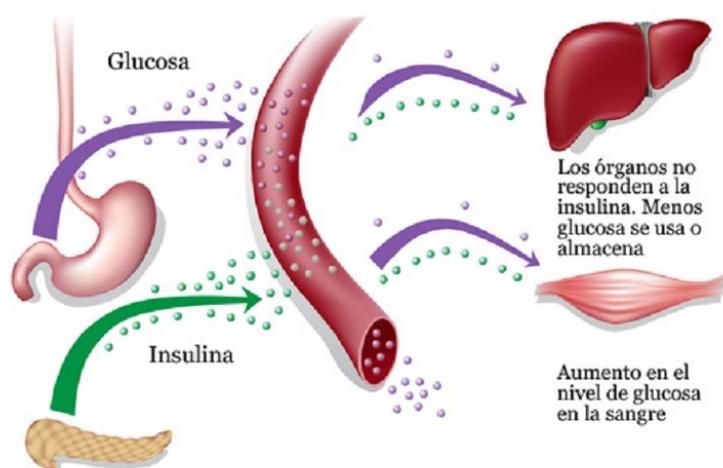


Figura 2.13. Problemas presentes en la diabetes mellitus tipo II (Guagnelli, 2014)

El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia (aumento de glucosa en la sangre) que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos. La insulina es la principal hormona reguladora de los mecanismos de homeostasis de la glucosa y de lípidos. También aumenta la síntesis de triglicéridos a nivel hepático y en el tejido adiposo disminuyendo la lipólisis (Escobar y Tébar, 2009). Según las encuestas de la OMS (WHO, 2016), 422 millones de adultos tienen diabetes (1 de cada 11 personas) lo que provoca 3.7 millones de muertes debido a esta enfermedad. Otras enfermedades, como el exceso de masa corporal y la obesidad, tienen un impacto negativo sobre el incremento en la incidencia de diabetes mellitus tipo II tanto en niños y adolescentes como en adultos (Escobar y Tébar, 2009).

La OMS señala que medidas simples relacionadas con el estilo de vida son eficaces para prevenir la diabetes tipo 2 o retrasar su aparición. Para ayudar a prevenir la

diabetes mellitus tipo 2 y sus complicaciones se debe alcanzar y mantener una masa corporal saludable, consumir una dieta saludable que evite los excesos de carbohidratos, ya que como se vio antes son polímeros de glucosa, así como mantenerse activo físicamente, al menos 30 minutos de actividad regular de intensidad moderada la mayoría de los días de la semana (OMS, 2015). Todo esto, naturalmente, debería ocurrir si no hubiera la inequidad social que existe y que es el factor principal para que la mayoría de las personas de este planeta no reciban la educación que debieran para poder comprender cuáles son los alimentos sanos y cuáles no, no reciban ingresos suficientes para poder consumir una dieta saludable, ni tengan el tiempo para gastar 30 minutos de actividad física regular diariamente (nota de la asesora).

2.6. TERMOGÉNESIS

De acuerdo con el metabolismo y la temperatura del organismo se puede dividir a los animales en dos grupos: Los poiquiloterms, como los anfibios y reptiles, los cuales se encuentran condicionados por la temperatura externa como aquellos que en periodos fríos disminuyen su metabolismo y caen en hibernación y los animales homeoterms, como los humanos, que poseen temperatura corporal constante e independiente de las variaciones externas en un rango de 37°C para el óptimo funcionamiento de las enzimas del metabolismo (Silgado y Tardón, 2010). Los animales homeoterms mantienen constante su temperatura corporal frente al medio mediante la producción de calor, fenómeno que se denomina termogénesis y tiene varios componentes (Figura 2.14): La termogénesis obligatoria o metabolismo basal, termogénesis asociada con la dieta o efecto térmico de la comida, termogénesis asociada con la actividad física y la llamada termogénesis facultativa o adaptativa (Obregón, 2006).

El metabolismo basal se correlaciona con la masa magra del individuo (no con la masa grasa), se asocia con reacciones metabólicas esenciales, que constituyen el metabolismo basal propiamente. Tiene cierto componente genético y es regulado por hormonas tiroideas. Otro componente del gasto energético diario es el efecto

térmico de la comida, termogénesis que acompaña a la digestión, absorción, distribución y almacenamiento de los nutrientes. El efecto térmico de los nutrientes es diferente en los distintos alimentos, siendo mayor el de los carbohidratos y proteínas que el de las grasas. Asimismo, se ha observado que disminuye en pacientes obesos.

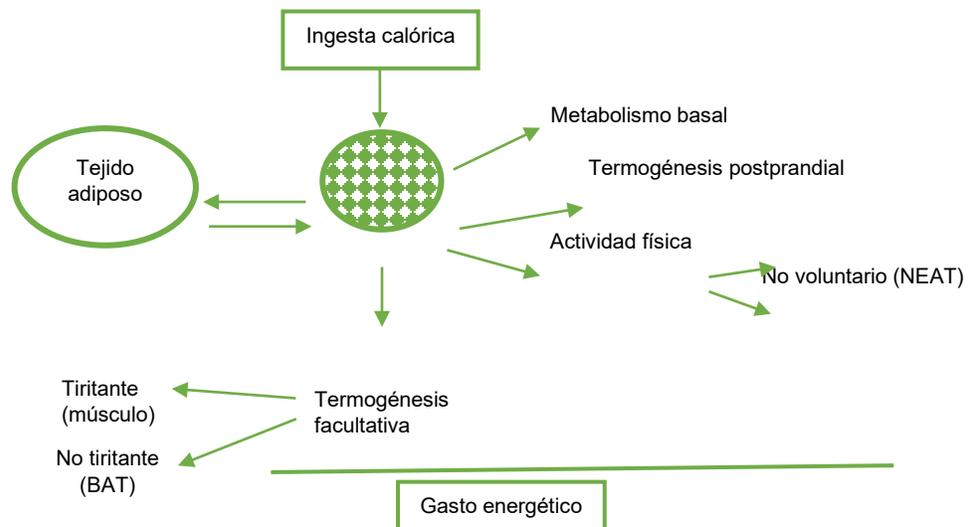


Figura 2.14. Componentes del gasto energético: metabolismo basal, termogénesis asociada con la dieta, termogénesis asociada con la actividad física y termogénesis facultativa (Obregón, 2006)

La termogénesis asociada con la actividad es difícil de cuantificar ya que depende de la duración e intensidad del ejercicio. La termogénesis facultativa o adaptativa es el calor producido en respuesta a la exposición al frío o a una dieta hipercalórica y está regulada por el sistema nervioso simpático. Se produce en músculo y en tejido adiposo marrón o café o pardo (Obregón, 2006). A diferencia del tejido adiposo blanco, el tejido adiposo marrón tiene la función de la producción de calor. La molécula responsable de dicho fenómeno es una proteína mitocondrial: la termogénica o proteína desacoplante (*UCP* por *UnCoupling Protein*, en inglés) la cual es un canal iónico que desacopla el ciclo de producción de ATP en la fosforilación oxidativa disipándose en forma de calor parte de la energía que se hubiera almacenado como ATP. Este sistema se induce mediante la exposición al

frío o por efecto de la dieta. Es considerada la principal modulación en el sistema nervioso simpático (Moreno y col., 2000).

A continuación, en el siguiente capítulo se presenta la metodología seguida en esta investigación para corroborar el comportamiento con los edulcorantes de estos animales modelo en su infancia, pubertad y adolescencia.

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA Y DISEÑO DE EXPERIMENTOS

3.1. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO EXPERIMENTAL

A continuación, en la Figura 3.1, se presenta el diagrama de flujo del proceso experimental.

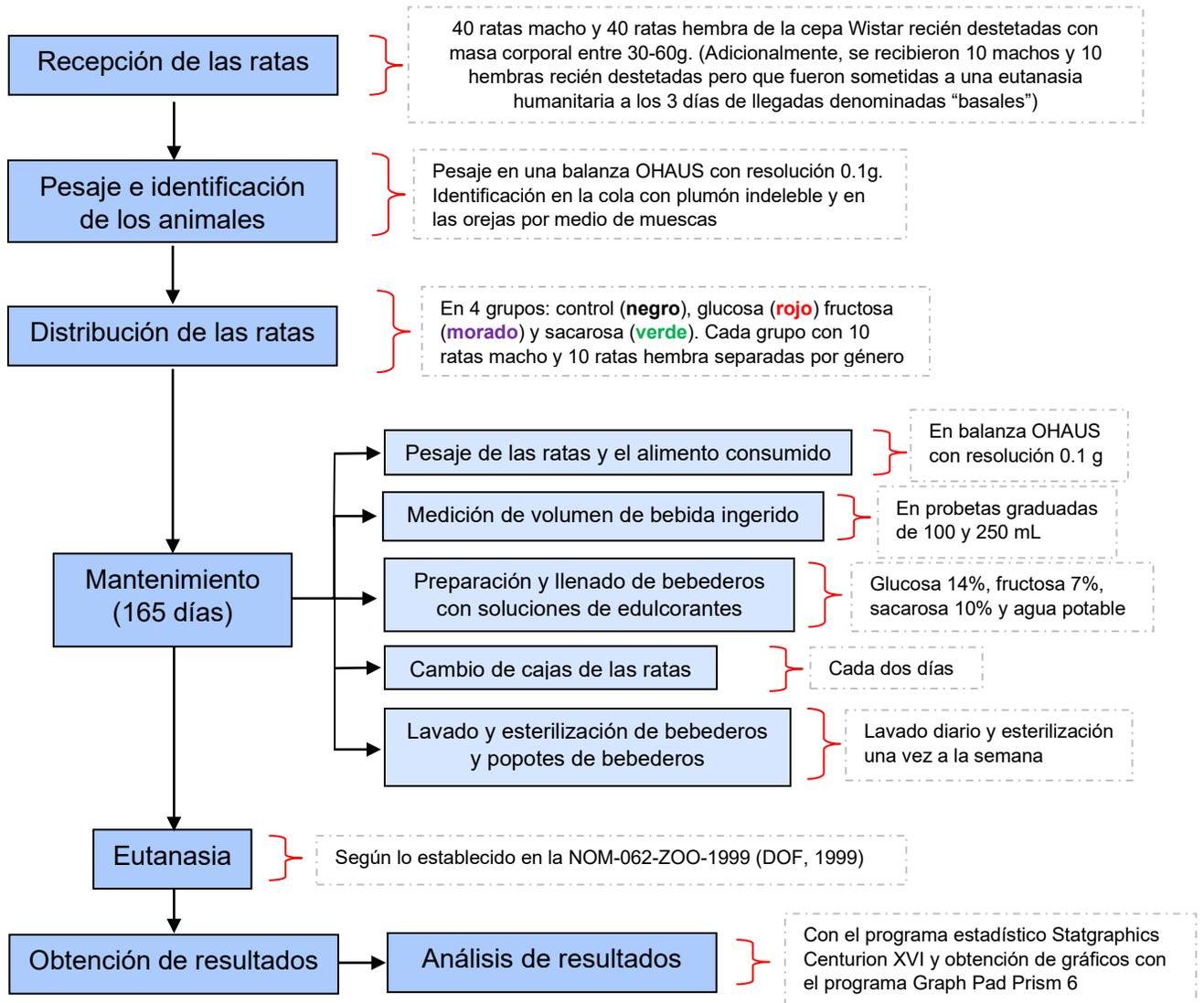


Figura 3.1. Diagrama de la estrategia experimental seguida en el proyecto

Se aprecian, de manera general, en la Fig. 3.1, los pasos seguidos durante el desarrollo experimental de esta investigación. Los detalles se especifican en los puntos posteriores.

3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental consistió en un diseño de tipo multifactorial categórico con dos factores: Género del animal y tipo de edulcorante consumido.

El primer factor presentó 2 niveles, género: Ratas macho y ratas hembra. Cada grupo tuvo 10 especímenes de cada género (n=10) dando un total de 40 ratas macho (30 ratas de los grupos que consumieron los edulcorantes más 10 ratas del grupo control) y 40 ratas hembra (N=80).

El segundo factor presentó 4 niveles correspondientes al grupo control que únicamente consumió agua potable y tres grupos que consumieron edulcorantes *ad libitum*: glucosa, fructosa y sacarosa disueltos en el agua potable suministrada en porcentajes similares a los presentados en las bebidas comerciales mal denominadas “azucaradas” (ya que solamente las que tienen azúcar son azucaradas y las otras son endulzadas). En este caso, como se vio en la Figura 3.1, tuvieron glucosa al 14%, fructosa al 7% y sacarosa al 10% para tener las concentraciones que presentan los productos comerciales.

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. MODELOS ANIMALES

En este estudio se emplearon 40 ratas macho y 40 ratas hembra de la estirpe Wistar recién destetadas comercializadas por la empresa ENVIGO con una masa corporal entre 30 y 60 g. Para contar con parámetros basales se seleccionaron al azar 10 ratas macho y 10 ratas hembra las cuales estuvieron 3 días en periodo de adaptación con una alimentación sólida y al cuarto días fueron sometidas a una eutanasia humanitaria. Todos los especímenes se ubicaron en la sala 519 de la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA) en el Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM. Posterior a la recepción y al traslado de los animales a la sala

de la UNEXA, cada una de las ratas se pesó y se marcó en la cola con un plumón permanente para ser, posteriormente perforadas en las orejas para su identificación permanente con un número asignado de manera aleatoria mediante el programa Statgraphics XVI.I. Ya marcadas fueron distribuidas de manera aleatoria en cajas previamente identificadas dependiendo del tipo de edulcorante a suministrar según lo establecido en el diseño experimental propuesto.

3.3.2. DIETA ADMINISTRADA

Durante tres días se mantuvieron a las ratas en periodo de adaptación donde se les proporcionó agua pura y alimento *ad libitum* con la dieta Teklad Global 18s, la cual es una dieta de tipo isocalórica e isoproteica dada de manera habitual a esta estirpe con la finalidad de brindar todos los nutrientes permitiendo una alimentación balanceada. Su composición es la siguiente: proteína cruda 18.6%, grasa cruda 6.2%, carbohidratos 44.2%, fibra cruda 3.5%, fibra detergente neutral 14.7%, cenizas 5.3% y una variedad de vitaminas. La densidad energética del alimento es de 3.1 kcal/g (13.0 kJ/g) (ENVIGO, 2015).

Posteriormente a ese día, se les proporcionó una cantidad de alimento conocida y pesada en una balanza con resolución de 0.1 g de la marca OHAUS Scout-Pro SP4001 de manera *ad libitum*. El alimento consumido se obtuvo mediante diferencia de masa al cuantificar el alimento al día siguiente con el objetivo de volver a suministrar una cantidad fija de alimento nuevo.

3.3.3. BEBIDA SUMINISTRADA

Diariamente se prepararon y administraron bebidas nuevas debido a la alta probabilidad de desarrollo de microorganismos. Conforme los animales fueron creciendo necesitaron de un mayor volumen de bebida y alimento. Las disoluciones de los edulcorantes fueron elaboradas con las concentraciones antes mencionadas (glucosa al 14%, fructosa al 7% y sacarosa al 10%). Fueron preparadas pesando los cristales del edulcorante, con una pureza de 99.8% para la fructosa, 99% para la glucosa y 99.8% para la sacarosa, todos provenientes de Reactivos CIVEQ, en la misma balanza analítica OHAUS modelo Scout-Pro SP4001 con una resolución de

0.01g. Se disolvieron en vasos de precipitado de cristal de 500mL y se utilizaron matraces aforados de 100, 250, 500 y 1000 mL para preparar los volúmenes requeridos.

Adicionalmente, todos los días los frascos fueron lavados, secados y almacenados y una vez por semana eran esterilizados en autoclave para evitar el desarrollo de microorganismos, como ya se mencionó.

3.3.4. REGISTRO DE DATOS DE LOS PARÁMETROS EVALUADOS

Diariamente y a la misma hora, se evaluó la masa corporal de las ratas pesándolas en una balanza analítica de la marca OHAUS, con una resolución de 0.1 g, cuantificando el volumen de bebida consumido con una probeta de cristal de la marca PYREX de 250 +/- 2mL y de 100+/- mL y el alimento ingerido pesado en la misma balanza. Los resultados se anotaron a mano en la bitácora y posteriormente se capturaron conformando una base de datos en la paquetería EXCEL donde fueron almacenados.

3.3.5. MANTENIMIENTO DE LOS ESPECÍMENES

Los animales se mantuvieron en la medida de lo posible junto con otros especímenes para que pudieran socializar y no desarrollaran estrés. De manera continua se cambiaron las cajas donde habitaban con el objetivo de que no estuvieran en la suciedad y desarrollaran alguna infección y, durante los 165 días del experimento, permanecieron en la sala 519 de la UNEXA donde se mantuvieron ciclos de luz/oscuridad de 12 horas, con una humedad controlada y una temperatura promedio de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$. La manipulación de los especímenes se realizó cumpliendo con las disposiciones de la NOM-062-ZOO-1999 (DOF, 1999).

3.3.6. EUTANASIA DE LOS ANIMALES Y OBTENCIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO

Con la finalidad de cuantificar el tejido adiposo presente en las ratas antes y después del consumo de los edulcorantes y obtener datos adicionales para el análisis del proyecto, se realizaron dos eutanasias humanitarias. La primera de ellas

se realizó tres días después del periodo de adaptación, tomándose 10 especímenes de cada género y la segunda se efectuó pasados los 165 días de experimentación, tomándose 5 por cada grupo y género (20 machos y 20 hembras en cada una). Para ello, las ratas fueron dejadas en ayuno de 12 h y, posteriormente, cumpliendo con las especificaciones de la NOM-062-ZOO-1999 (DOF, 1999), se introdujeron una por una en una cámara rica en CO₂ para que perdieran la consciencia y posteriormente fueran decapitadas con una guillotina para roedores. Una vez recuperado el plasma sanguíneo, el patólogo M en C. Gerardo Salas Garrido de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, realizó la disección de diversos órganos, extrayendo el hígado, corazón, riñones (derecho e izquierdo), páncreas y tejido retroperitoneal derecho e izquierdo. Cada órgano fue pesado en la misma balanza analítica de resolución 0.1 g marca OHAUS y los resultados se guardaron en los registros correspondientes.

Toda la experimentación animal del proyecto fue aprobada previamente por el Comité Institucional para Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Química de la UNAM, en concordancia con las disposiciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (DOF, 1999).

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa Statgraphics Centurion XVI, Minitab 17 y los gráficos obtenidos se realizaron con el programa Graph Pad Prism 6.01. Lo que se deseaba observar con el estudio es el efecto del consumo de los diferentes edulcorantes y el género del animal sobre los patrones de ganancia de masa corporal, consumo de alimento e ingesta de bebida calculando con estos datos la ingesta energética teórica. Para ello, inicialmente se decidió utilizar un análisis de varianza de tipo multifactorial, andeva en español o "ANOVA" en inglés.

Este método calcula la variación de las medias y estima la variación "natural" de la población, para hacer una comparación entre ambas, midiendo la variación natural por medio de la variación del error. Si las muestras pertenecen a una misma población, la varianza de las medias es la enésima parte de la varianza de la población. Si se descarta esta situación es porque, además del azar, algo más

diferencia a las muestras. Si las diferencias solamente se deben al azar, las dos variaciones corregidas por sus grados de libertad son del mismo orden y su cociente vale más o menos 1, este valor se compara con lo reportado en Tablas para una distribución F normal, buscándose encontrar si las relaciones obtenidas resultan aceptables a 1 unidad o no son aceptables (Guisande y col., 2006). Para que esta prueba sea válida se debe cumplir con cuatro supuestos: 1) Las muestras deberán ser aleatorias, 2) deberán ser independientes, 3) deberán provenir de una población normal y 4) las varianzas de las muestras deberán ser iguales (homocedásticas).

La verificación de la normalidad de los grupos de datos se realizó por medio de la Prueba de Kolmogorov-Smirnov, cuyos resultados se encuentran en la Tabla A.1, del Anexo 1, la cual es una prueba no paramétrica que puede utilizarse con muestras de cualquier tamaño determinando la bondad de ajuste, es decir, que permite medir el grado de concordancia existente entre la distribución de un conjunto de datos y una distribución teórica específica, como caso particular. Sirve para contrastar si los datos que se obtuvieron procedían de una distribución normal y, por tanto, podrían ser analizados con pruebas paramétricas. Para realizar esta prueba se parte de “n” observaciones de una variable aleatoria X y se trata de contrastar la hipótesis $H_0: X \sim F_0$, siendo F_0 una función de distribución dada, frente a una alternativa H_1 : los datos no proceden de la distribución F_0 (González-Manteiga y Pérez-de-Vargas-Luque, 2005).

Por otra parte, se aplicó la Prueba de Levene, cuyos resultados se encuentran en la Tabla B.1, del Anexo 2, la cual analiza la homogeneidad de la varianza calculando para cada dato experimental la diferencia absoluta entre su valor y la mediana de su grupo (Mongay, 2005); con un valor de P de la prueba mayor a 0.05 se demuestra que las varianzas de los grupos resultarán iguales con un 95% de confianza.

Para aquellos datos que cumplieron los supuestos antes mencionados se procedió al análisis de estos por medio del *andeva* (ANOVA, en inglés) multifactorial y, para aquellos que no los cumplieron, se procedió con un análisis diferente.

Para los datos que cumplieron con la normalidad, pero no con la homocedasticidad se recurrió a la Prueba de Welch, la cual resulta similar a la prueba *t* pero realiza algunas modificaciones para calcular los grados de libertad, de manera que,

disminuye el error por la no homogeneidad de la varianza y se pueden comparar las medias de los datos sin necesidad de utilizar el ANDEVA. Posteriormente, para resolver el caso de varianzas no homogéneas se llevó a cabo la prueba de Games-Howell, la cual es una prueba no paramétrica que permite hacer una comparación múltiple de los datos obtenidos. La prueba está diseñada con base en la corrección de los grados de libertad de Welch y utiliza la distribución de rango "estudentizado" similar a la de Tuckey denominada como "q".

Para aquellos datos que no cumplieron ni con la normalidad ni la homocedasticidad, el análisis se llevó a cabo por medio de la Prueba de Medianas de Mood, el cual es un método de la estadística no-paramétrica que prueba la hipótesis de que las medianas de las muestras son iguales contando el número de observaciones en cada muestra a cada lado de la mediana global (Marqués, 2001) y, haciendo una comparación del valor de P obtenido en esta prueba con el de una Prueba chi-cuadrada, se encuentra si existe o no diferencia entre los grupos. Aunque estadísticamente no es correcto aplicar una prueba de comparación múltiple como la de Duncan, pues los datos no cumplen con la normalidad y la homocedasticidad se usó como herramienta guía para determinar cuáles medias resultarían significativamente diferentes de otras con un nivel de confianza del 95% agrupándolas entre ellas, permitiendo realizar una discriminación entre las muestras.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados obtenidos para cada uno de los parámetros evaluados en esta investigación en el periodo de 165 días que se mantuvieron a las ratas en el experimento, así como su interpretación estadística.

4.1. INCREMENTO EN MASA CORPORAL

Desde fines del siglo XIX y hasta la fecha, las ratas Wistar son una de las cepas utilizadas cotidianamente para la investigación en los laboratorios (Ver Anexo 3a). Estos mamíferos sirven como organismos modelo para el análisis de un número importante de características biomédicas y toxicológicas. También se emplean para la investigación de las condiciones que afectan a los seres humanos (Cossío-Bolaños y col., 2013). Debido a esto se tiene una gran base de datos de control de diferentes parámetros en su desarrollo como aumento de la masa corporal en el periodo de crecimiento, consumo de alimento, masa de sus órganos, etc.

El proveedor de los especímenes utilizados en este proyecto, ENVIGO, proporciona un valor de masa de referencia, de acuerdo con el crecimiento "normal" de los animales (Anexo 3b). Este dato puede ser un primer parámetro de comparación con las ratas utilizadas. Para las ratas macho la masa reportada para los 165 días de crecimiento más los tres días de adaptación y un destete aproximado a los 21 días del nacimiento, aproximadamente 26-27 semanas, deberían ser de $360.57 \pm 46.30\text{g}$ y para las hembras de $205.69 \pm 20.20\text{g}$ (ENVIGO, 2008). Teniendo esto en consideración y observando los datos de la Tabla 4.1 que muestran los promedios de masa de las ratas macho y hembra por grupo de edulcorantes se nota que el grupo control se encontró dentro del rango esperado para la masa de los especímenes por género, por lo que se puede decir que todas las ratas tuvieron un crecimiento normal.

De acuerdo con un estudio reportado por Sengupta (2013), los animales se mantuvieron durante la etapa de infancia, pubertad y adolescencia hasta llegar a ser adultos jóvenes ya que se tuvieron aproximadamente durante 6 meses, hasta que llegaron a una edad aproximada de 18 años humanos. Por tanto, a lo largo de este experimento se trabajó con ratas bebés, infantiles, prepúberes y púberes, terminando con ratas jóvenes.

Tabla 4.1. Promedio de masa corporal de las ratas en el día 165 de experimentación

Grupo	Machos	Hembras
Control	412.1 ± 29.1	193.6 ± 20.7
Glucosa	412.9 ± 45.5	201.7 ± 22.0
Fructosa	450.3 ± 44.1	196.1 ± 14.2
Sacarosa	416.5 ± 28.9	196.1 ± 22.1

Los datos obtenidos para el primer parámetro evaluado fueron revisados por el programa Statgraphics XV.I comprobando que la población cumplió con los supuestos necesarios para realizar un análisis multifactorial andeva (ANOVA en inglés) (Ver Tablas A.1 y B.1, Anexos 1 y 2). Esto se enmarcó de acuerdo con el diseño experimental planteado al principio, considerando dos factores: género del animal y tipo de edulcorante. Como se mencionó, el primer factor presentó dos niveles: ratas macho y ratas hembra y el segundo factor presentó 4 niveles: glucosa, fructosa, sacarosa y un grupo control.

El valor P obtenido en la prueba (Tabla 4.2) que mostró una significancia estadística de los factores con un nivel de confianza del 95% fue mayor a 0.05, para el tipo de edulcorante, por lo que no hubieron diferencias significativas en cuanto al incremento en masa corporal de las ratas respecto con el tipo de edulcorante que consumieron durante el periodo de experimentación. En contraste, para el género de los animales el valor P fue menor a 0.05 por lo que para este factor sí se encontraron diferencias significativas.

En los Gráficos 4.1 y 4.2 se observa que, tal como se describió anteriormente, el género de los animales en los cuatro grupos presentó un efecto sobre el incremento en masa acumulado tanto de las ratas macho como de las ratas hembra. Ambos

grupos presentaron una tendencia similar y, en todos los grupos, se hizo evidente que los machos fueron los que tuvieron un mayor incremento en masa en comparación con las hembras, dato que se encuentra de acuerdo con lo descrito en la investigación de González-Madariaga y col. (2015), donde el incremento en masa y obesidad se desarrolló más notoriamente en las ratas macho que en las hembras. Además, ENVIGO (2008, 2016) claramente muestra esta diferencia por género (Anexo 3b).

Tabla 4.2. Análisis de varianza multifactorial, andeva (ANOVA en inglés) para el incremento en masa corporal acumulado a lo largo de 165 días para ratas macho y hembra

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
<i>Efectos principales</i>					
A: Género	412.32	1	412.32	1073.09	0.0000
B: Edulcorante	4938.91	3	1646.30	1.73	0.1684
<i>Residuos</i>	71433.4	75	952.446		
<i>Total (corregido)</i>	443.14	79			

Como fue mencionado anteriormente, no se encontró alguna diferencia significativa en cuanto al incremento de masa obtenido por las ratas según el tipo de edulcorante consumido. Este comportamiento fue similar a los resultados obtenidos en tres diferentes estudios:

Olguín y col. (2015) no reportaron diferencias significativas en un estudio donde se evaluó el efecto del consumo de edulcorantes calóricos: sacarosa y fructosa en ratas con obesidad.

Guzmán y Jiménez (2013) encontró que después de 270 días de experimentación proporcionando en la bebida a las ratas edulcorantes calóricos e hipocalóricos no se encontraron diferencias significativas, pero sí se pudo encontrar una tendencia de incremento en masa: Grupo fructosa > control > sacarosa

Adicionalmente, el estudio de Martínez y col. (2010), dio la misma tendencia de consumo que en este estudio. Después de realizar un análisis de varianza con los datos en cuanto al incremento en masa de las ratas macho (Tabla 4.3) se encontró que el valor P de la prueba fue mayor al valor de 0.05.

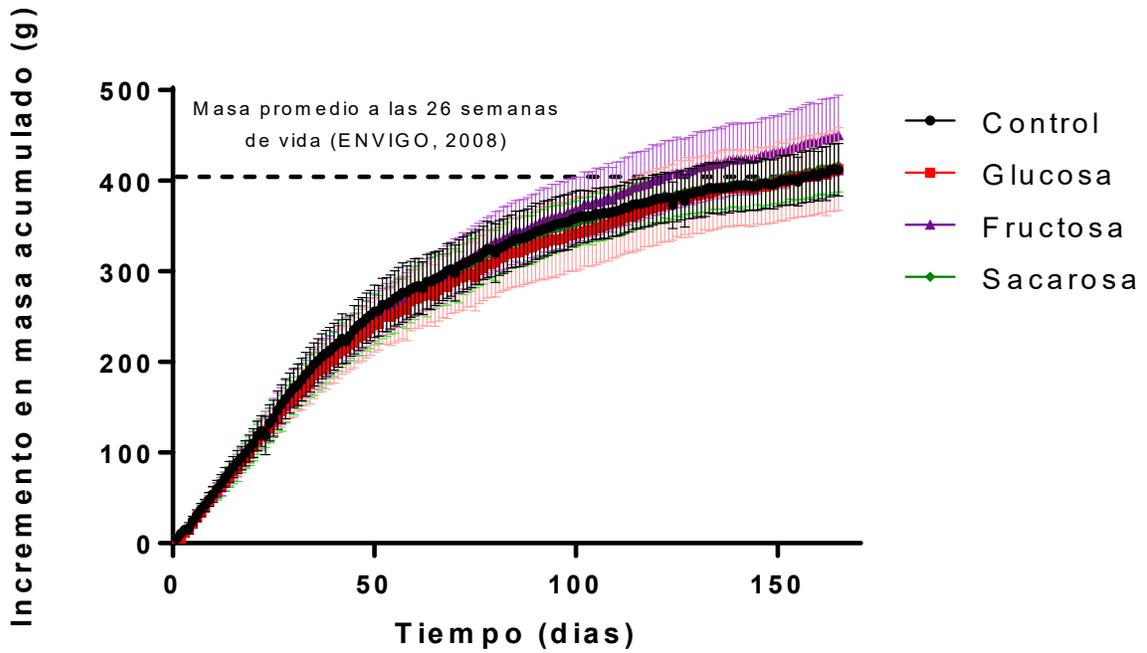


Gráfico 4.1 Incremento en masa acumulado de ratas macho durante 165 días de experimentación

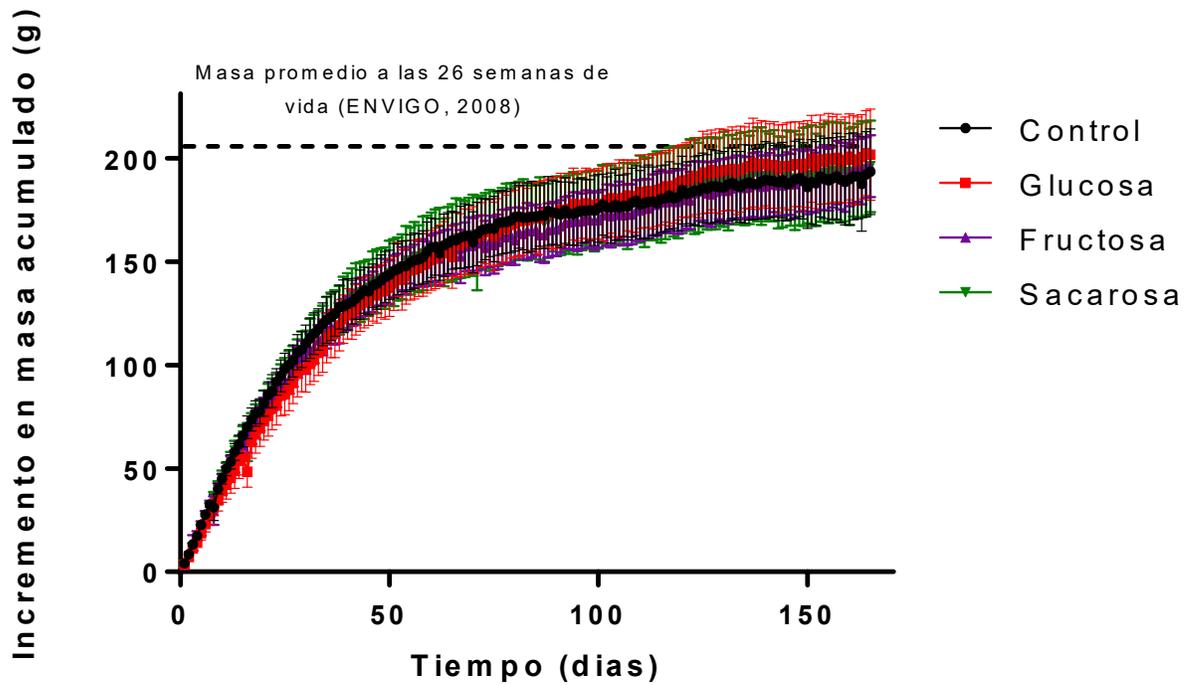


Gráfico 4.2 Incremento en masa acumulado de ratas hembra durante 165 días de experimentación

Tabla 4.3. Análisis de varianza unifactorial, andeva (ANOVA en inglés), para el incremento en masa de las ratas macho

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	10083.6	3	3361.2	2.36	0.0879
Intra grupos	51312.5	36	1425.35		
Total (Corr.)	61396.1	39			

Esto indicó que no hubieron diferencias significativas entre la media de los datos entre grupos. Obteniendo los promedios de masa corporal para las ratas macho después de los 165 días de experimentación, se encontró que el mayor incremento de masa lo presentaron las ratas que consumieron fructosa con un promedio de 450.3 ± 44.1 g, seguidos del grupo que ingirió sacarosa con 416.5 ± 28.9 g, el grupo glucosa con 412.9 ± 45.5 g y por último el grupo control con 412.1 ± 29.1 g. Comparando los promedios de los grupos que consumieron edulcorantes con el del grupo control, que solamente consumió agua potable, los tres grupos presentaron una masa promedio mayor, la cual, tal como se mencionó en el Capítulo 2 (2.3 y 2.4), es debida a que una ingesta elevada de carbohidratos produce una mayor acumulación de grasa en el tejido adiposo (Carvajal-Carvajal, 2015) y esta respuesta fisiológica, puede variar de acuerdo con el tipo de carbohidrato ingerido (Pinheiro y col. 2008).

En el grupo que presentó el mayor incremento en masa corporal (que fue el de la fructosa), se ha observado que disminuyen los niveles de leptina e insulina en la sangre (Pérez y col., 2007), por lo que se favorece la ingesta alimenticia, el poco gasto energético, la síntesis de nuevos ácidos grasos y su acumulación como tejido adiposo, mientras que la glucosa promueve de mejor manera la producción de insulina y leptina favoreciendo la metabolización del carbohidrato y su conversión a energía en el organismo. El grupo de machos que consumió sacarosa tuvo un incremento en masa corporal intermedio entre los otros dos edulcorantes debido a que, al descomponer la molécula en glucosa y fructosa, se metabolizan de diferente manera permitiendo que una parte del carbohidrato se acumule como grasa y la otra se metabolice para convertirse en energía.

De igual manera que para las ratas macho el valor P del análisis de varianza para

las ratas hembra (Tabla 4.4) mostró un valor mayor a 0.05 por lo que tampoco hubieron diferencias estadísticas entre el incremento en masa de las ratas hembra de acuerdo con el edulcorante que consumieron. La prueba de comparación múltiple identificó un solo grupo homogéneo, mostrando que el que tuvo un mayor incremento, fue el grupo de glucosa con 201.7 ± 22.0 g, luego el de fructosa con 196.1 ± 14.2 g, seguido del de sacarosa con 196.1 ± 22.1 g y, por último, el grupo control con 193.6 ± 20.7 g.

Tabla 4.4. Análisis de varianza unifactorial, andeva (ANOVA en inglés), para el incremento en masa de ratas hembra

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	352.475	3	117.492	0.29	0.8329
Intra grupos	14623.8	36	406.217		
Total (Corr.)	14976.3	39			

4.2. ALIMENTO CONSUMIDO

De acuerdo con los resultados obtenidos en la Tabla A.1 del Anexo 1, los datos obtenidos para este parámetro presentaron una distribución normal. Sin embargo, en la Tabla B.1 del Anexo 2, se encontró que hubo una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar de los datos. Esto viola uno de los supuestos importantes subyacentes en el análisis de varianza e invalida la mayoría de las pruebas estadísticas comunes empleadas. Por ello, fue necesario recurrir a emplear la prueba de Welch y, como prueba *a posteriori*, la de Games-Howell, las cuales se explicaron en el apartado 3.4 de la sección de Metodología y diseño de experimentos.

Primeramente, la Prueba de Welch contrasta la hipótesis nula de que las varianzas de los grupos son iguales con la hipótesis alternativa de que al menos una de las varianzas es diferente con un nivel de significancia de 0.05. Para el caso del género de los animales modelo, el valor P de la prueba fue menor a 0.05 por lo que sí existieron diferencias significativas por efecto del género del animal sobre la media

de alimento ingerido. Después de realizar la prueba de comparación de Games-Howell, se encontró que los machos presentaron un mayor consumo con una media de 2,726.0 g mientras que las hembras tuvieron uno de 1,652.9 g. Esta tendencia se puede observar en la escala del eje Y en los Gráficos 4.3 y 4.4 siendo mayor en el caso de las ratas macho y menor en el de las ratas hembra.

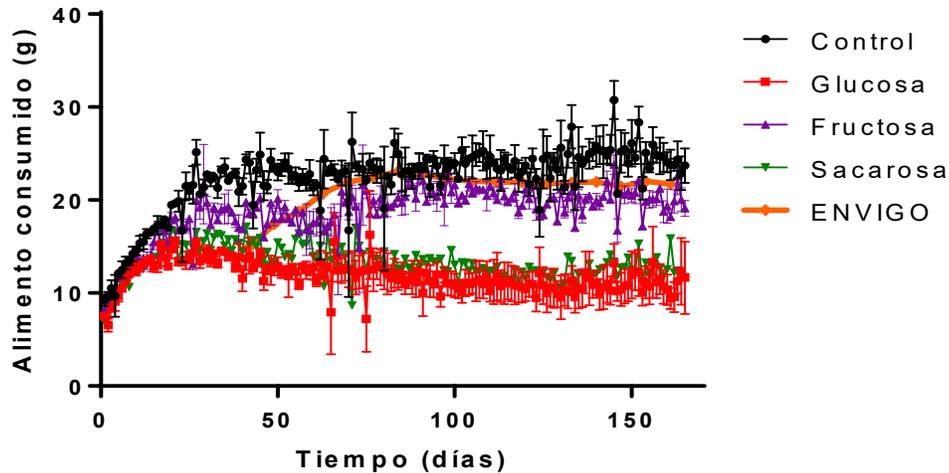


Gráfico 4.3. Alimento consumido por las ratas macho durante los 165 días de experimentación

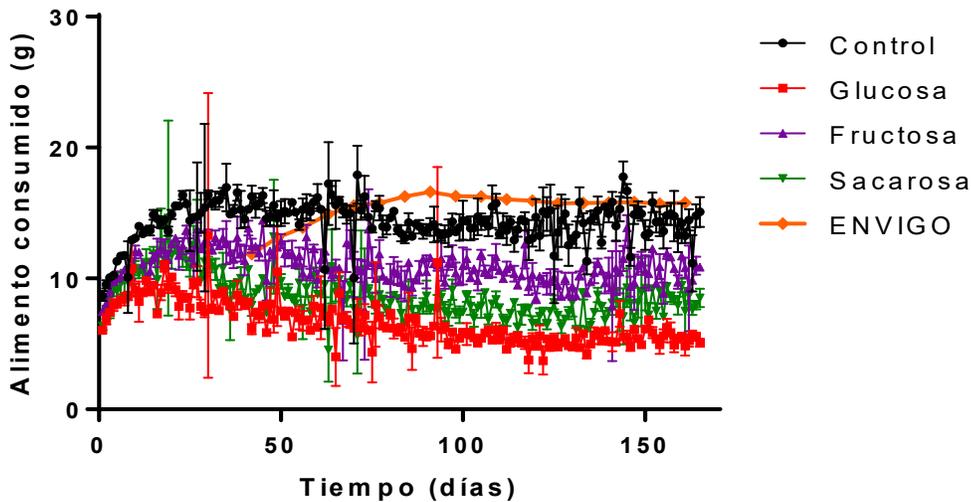


Gráfico 4.4 Alimento consumido por las ratas hembra durante los 165 días de experimentación

En las mismas gráficas se comparó el consumo de alimento de las ratas con el reportado por el proveedor (ENVIGO, 2008) encontrándose que, para las ratas

macho, el grupo control tuvo un consumo similar al reportado, ya que no adquiere ninguna fuente extra de calorías más que el alimento, el grupo fructosa también presentó un consumo similar al control, mientras que los grupos sacarosa y glucosa se encontraron por debajo de dicho valor. Para el caso de las hembras el grupo control coincidió con los valores del proveedor ENVIGO, mientras que los demás grupos de edulcorante presentaron un consumo menor al reportado.

Como se mencionó en la parte de metodología, el alimento fue proporcionado de manera *ad libitum* y sin importar el género para todos los grupos, pero, aun así, hubo una diferencia significativa en el consumo. Esto se debió a que los organismos obtienen la energía que necesitan de los alimentos que ingieren, por lo que la cantidad de estos dependerán del tamaño, de la composición y de las necesidades energéticas propias del organismo (Riumallo, 2019), como el metabolismo basal, el ejercicio físico y la termogénesis, además del crecimiento (Ayúcar, 2005). Debido a que las ratas macho tuvieron una mayor masa corporal, fue necesario proporcionarles una mayor cantidad de alimento para cubrir sus requerimientos energéticos básicos y permitir su crecimiento.

En cuanto al consumo de alimento para las ratas macho, la prueba de Welch presentó un valor menor a 0.05, por lo que sí hubieron diferencias significativas en cuanto al efecto del edulcorante sobre los patrones de ingesta de consumo de alimento. La prueba de comparación de Games-Howell divide a los edulcorantes en tres grupos homogéneos de acuerdo con lo observado en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5. Resultados de la Prueba Games-Howell para la ingesta de alimento en ratas macho

Edulcorante	N	Media (g)	Grupo
Control	10	3,672.1	A
Glucosa	10	1,945.8	B
Fructosa	10	3,092.1	C
Sacarosa	10	2,195.9	C

Letras diferentes indican diferencia significativa entre grupos

Tal como se observa en el Gráfico 4.5, el grupo con el mayor consumo de alimento fue el grupo control (A) seguido del grupo fructosa (B) y, por último, los grupos de sacarosa y de glucosa (C).

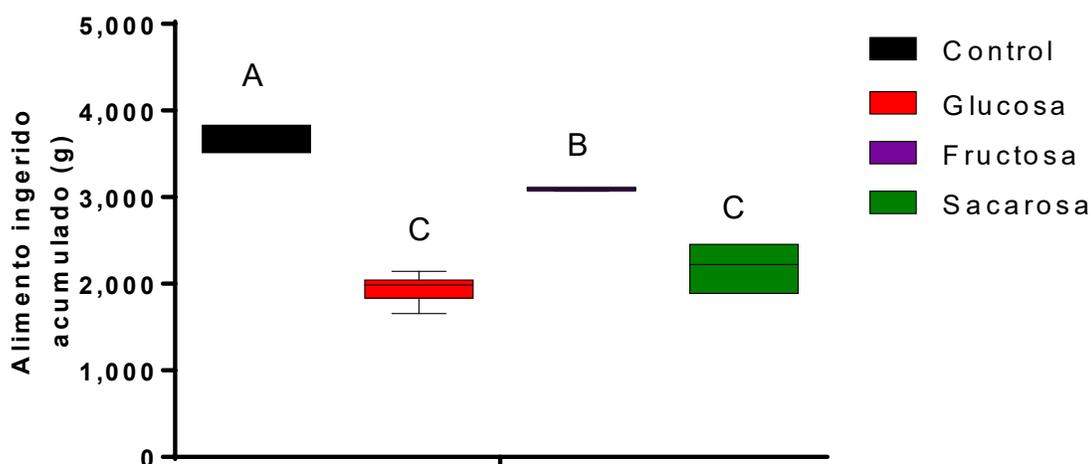


Gráfico 4.5. Diagrama de cajas y bigotes para alimento ingerido acumulado por ratas macho

Para el caso de las ratas hembra, la prueba de Welch también presentó un valor menor a 0.05, por lo que se afirma que sí hubo una diferencia significativa en cuanto al consumo de alimento dependiendo del tipo de edulcorante suministrado con un 95% de confianza. La prueba de Games-Howell (Tabla 4.6) agrupa los resultados en cuatro grupos homogéneos siendo el grupo control el que presentó un mayor consumo medio seguido de los grupos de fructosa, sacarosa y por último la glucosa. Dicho resultado, también se visualiza en el Gráfico 4.6, donde los grupos se aprecian bien delimitados y separados.

Tabla 4.6. Resultados de la Prueba Games-Howell para la ingesta de alimento en ratas hembra

Edulcorante	N	Media	Grupo
Control	10	2367.7	A
Fructosa	10	1800.6	B
Sacarosa	10	1428.7	C
Glucosa	10	1094.6	D

Letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos

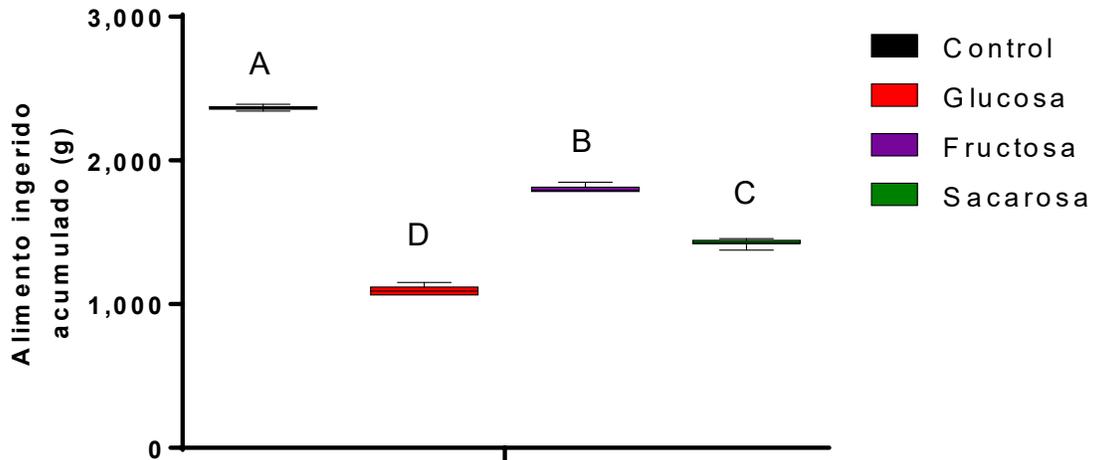


Gráfico 4.6. Diagrama de cajas y bigotes para alimento ingerido acumulado por ratas hembra

El grupo control para ambos géneros, fue el grupo que consumió una mayor cantidad de alimento en relación con los demás grupos, debido a que presentó un consumo prácticamente de cero calorías en la bebida tal como se muestra en la Sección 4.3. Esto provoca una necesidad de consumo energético en el alimento para poder mantener la homeostasis energética de una mejor manera. El sistema anabólico se encarga de la ganancia de masa corporal a través de la estimulación del hambre y el apetito (Simón y Del Barrio, 2002). En los seres vivos el sistema nervioso central recibe información del estado energético del organismo y con base en ello, envía ciertas señales a los órganos para poder mantener un balance energético óptimo (González y col., 2006). Para la glucosa, por ejemplo, el alto contenido energético provoca señales de llenado gástrico y de saciedad por medio de hormonas específicas como la insulina y la leptina.

Cabe mencionar que, en roedores, la leptina provoca pérdida de apetito y una disminución de su masa corporal mediante la reducción del depósito de grasa evitando un incremento excesivo del porcentaje graso e interviniendo en la homeostasis energética (González y col., 2006). La fructosa no provoca el mismo efecto que la glucosa sobre la liberación de las hormonas como la insulina y la leptina, por lo que aumenta el apetito de los animales aún cuando sus necesidades energéticas estén cubiertas con la bebida endulzada, lo cual repercute en el

aumento de su masa corporal dando como resultado que los grupos de fructosa hayan sido los de mayor incremento en cuanto a la masa corporal se refiere (Esquivel-Solís y Gómez-Salas, 2007).

La tendencia del consumo de ambos géneros fue la misma a la que se encontró en los estudios realizados por Carrillo (2011) y Guzmán y Jiménez (2013), donde también se evaluó el efecto de los edulcorantes en el consumo de alimento por parte de las ratas de la estirpe Wistar: Control > fructosa > sacarosa. En ninguno de los tres trabajos se utilizó la glucosa, pero el hecho de que este grupo ocupe el último lugar en el consumo de alimento es muy predecible ya que este edulcorante es el que aporta más kcal/mL que los otros dos utilizados.

4.3. BEBIDA INGERIDA

De igual manera que para el anterior parámetro se comprobó primero la normalidad y homocedasticidad obteniéndose que los datos del valor de P de la prueba que evaluó la normalidad (Prueba de Kolmogorov-Smirnov) fue menor a 0.05, por lo que se rechaza la hipótesis de que los datos provengan de una distribución normal con un 95% de confianza como se muestra en la Tabla A.1 en la sección del Anexo 1. De igual manera, para ambos géneros la prueba de Levene (Tabla B.1, Anexo 2) presentó el valor menor a 0.05, lo que demuestra que sí hubo una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar de los grupos con un nivel de confianza del 95%.

Debido a lo mencionado anteriormente, se procedió a analizar los datos por medio de la Prueba de Medianas de Mood. Para el efecto del género del animal sobre la bebida ingerida esta prueba evaluó la hipótesis de que las medianas de las dos muestras fueran iguales contando el número de observaciones en cada muestra a cada lado de la mediana global.

Esta fue de 10806.8 y tuvo un valor de P de la prueba menor a 0.05 lo cual significa que sí hubo una diferencia significativa entre el consumo de los dos géneros con un nivel de confianza del 95% (Tabla 4.7).

Tabla 4.7. Resultados de la Prueba de medianas de Mood para efecto del género del animal sobre el consumo de bebida

Género	Tamaño de muestra	n<=	n>	Mediana	LC inferior 95.0%	LC superior 95.0%
Hembra	40	25	15	10496.1	10275.2	10941.6
Macho	40	15	25	11082.0	10388.0	12168.2

Total, n = 80 Gran mediana = 10806.8 Estadístico = 5.0 Valor-P = 0.0253444
 LC= Límite de confianza

De acuerdo con la información de la Tabla 4.7, el grupo con el mayor consumo de bebida fue el de las ratas macho en relación con el de las ratas hembra, aún cuando los valores de las medianas fueron similares. Esta tendencia se puede observar claramente en los Gráficos 4.7 y 4.8, donde los valores de las ratas macho fueron superiores a los de las hembras, además de que presentaron desviaciones más grandes. En el caso del Gráfico 4.7, el volumen de bebida consumido por las ratas macho fue cercano a lo reportado por el proveedor ENVIGO, (2008) para el grupo control, mientras que el consumo de los otros grupos se vio afectado positivamente por los demás edulcorantes, al igual que en el caso del consumo de bebida en las ratas hembra (Gráfico 4.8).

Al obtener un promedio de consumo por género se encontró que los machos fueron los que más bebida ingirieron en comparación con las hembras, $10,624.75 \pm 3,301.63$ mL contra los $9,074.70 \pm 3,096.59$ mL, debido a que sus requerimientos energéticos fueron mayores tal como se mencionó en el apartado de “Alimento ingerido” y se tratará más a fondo cuando se hable del cálculo de la ingesta energética. Conforme transcurrieron los días, se encontró que los machos bebieron mucha bebida endulzada, por lo que se les aumentó constantemente el volumen en el bebedero y como reportaron los autores Martínez-Moreno y col. (2009, 2011), los grupos incrementaron su consumo de bebida cuando tuvieron una mayor disponibilidad de líquido. En cuanto al efecto de los edulcorantes sobre el patrón de consumo de bebida de las ratas macho, la prueba de medianas de Mood (Tabla 4.8) tuvo un valor de P menor a 0.05 por lo que sí hubieron diferencias significativas entre las medianas de las muestras con un 95% de confianza. Aunque estos datos no cumplen con los requisitos para realizar un Prueba de Duncan los resultados de esta dio una noción del comportamiento de éstos. La prueba permitió agrupar los

datos en tres grupos homogéneos tal como se describe en el Gráfico 4.9 donde los grupos de mayor consumo fueron los de sacarosa ($12,758.3 \pm 1,285.3$ mL) y glucosa ($12,593.3 \pm 734.1$ mL) seguidos del grupo fructosa ($10,614.4 \pm 226.4$ mL) y, por último, el grupo control ($5,651.9 \pm 769.7$ mL).

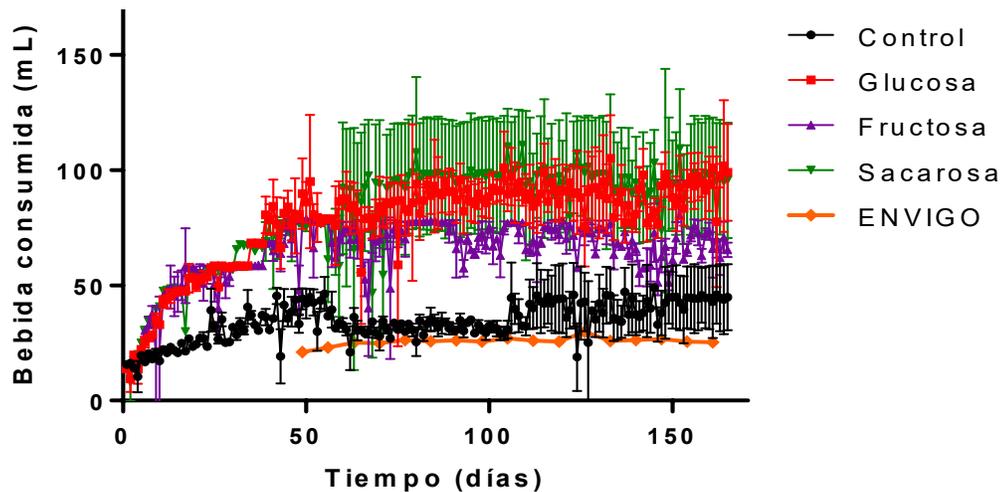


Gráfico 4.7 Tendencia de consumo de bebida en ratas macho durante 165 días de experimentación.

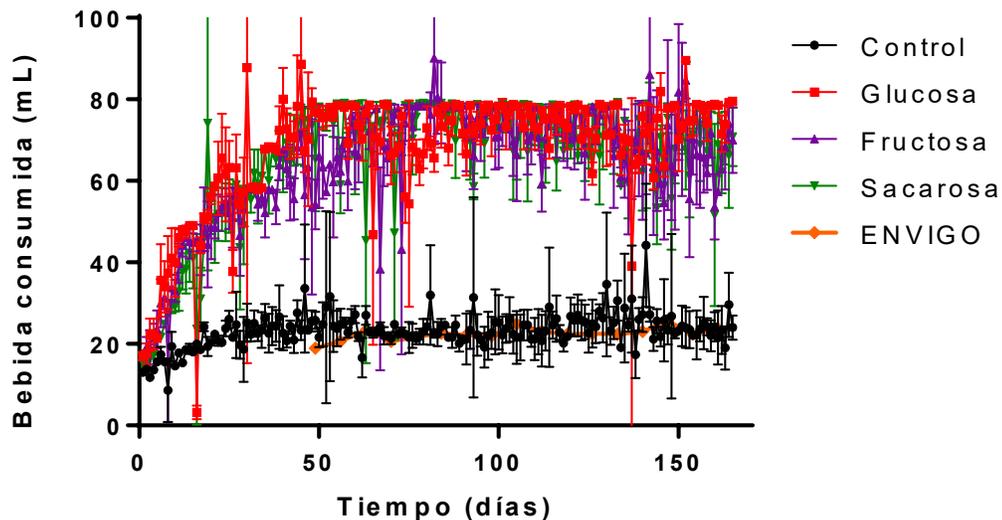


Gráfico 4.8 Tendencia de consumo de bebida en ratas hembra durante 165 días de experimentación

Tabla 4.8. Resultados de la prueba de medianas de Mood para el efecto de los edulcorantes sobre el consumo de bebida en ratas macho

Edulcorante	Tamaño de muestra	n<=	n>	Mediana	LC inferior 95.0%	LC superior 95.0%
Control	10	10	0	5651.9	4882.2	6421.6
Fructosa	10	10	0	10614.4	10388.0	10884.8
Glucosa	10	0	10	12593.3	11859.2	14097.5
Sacarosa	10	0	10	12758.3	11293.0	16585.5

Total, n= 40 Gran mediana = 11082.0 Estadístico = 40.0 Valor-P = 1.06551E-8
 LC= Límite de confianza

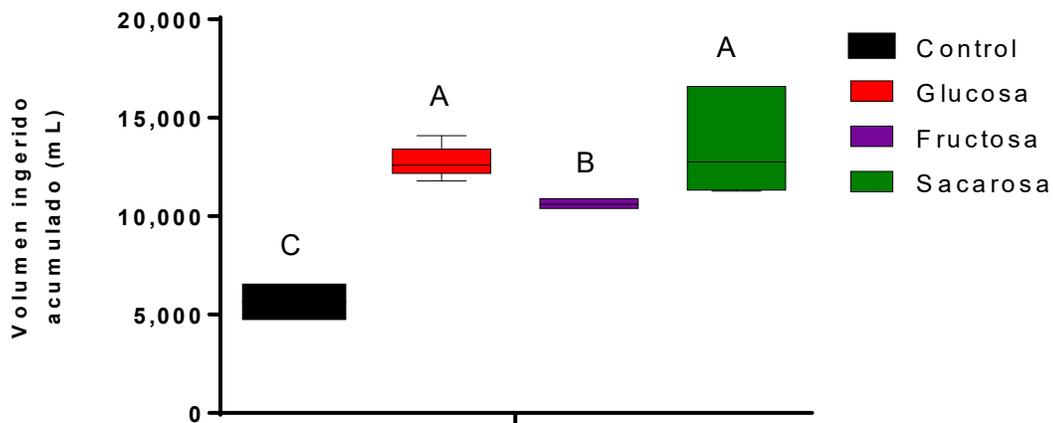


Gráfico 4.9. Diagrama de cajas y bigotes para bebida ingerida acumulada por ratas macho

La prueba de Medianas de Mood para la ingesta de bebida por parte de las ratas hembra también tuvo un valor P menor a 0.05 (Tabla 4.9) por lo que sí hubieron diferencias significativas entre la ingesta de bebida para las ratas hembra dependiendo del edulcorante consumido.

Tabla 4.9. Resultados de la prueba de medianas de Mood para efecto de los edulcorantes sobre el consumo de bebida en ratas hembra

Edulcorante	Tamaño de muestra	n<=	n>	Mediana	LC inferior 95.0%	LC superior 95.0%
Control	10	10	0	3671.25	3540.6	4436.1
Fructosa	10	5	5	10496.1	10366.8	10772.7
Glucosa	10	0	10	11162.7	10941.6	11542.5
Sacarosa	10	5	5	10756.2	10235.7	11175.5

Total, n = 40 Gran mediana = 10496.1 Estadístico = 20.0 Valor-P = 0.000169742
 LC = Límite de confianza

De igual manera, una prueba de Duncan permitió identificar tres grupos homogéneos tal como se muestra en el Gráfico 4.10, donde el grupo con un mayor volumen de bebida consumido fue el grupo de glucosa ($11,162.7 \pm 221.1$ mL) seguido del de fructosa ($10,496.1 \pm 129.3$ mL) el de sacarosa ($10,756.2 \pm 520.5$ mL) y por último el grupo control ($3,671.3 \pm 130.65$ mL).

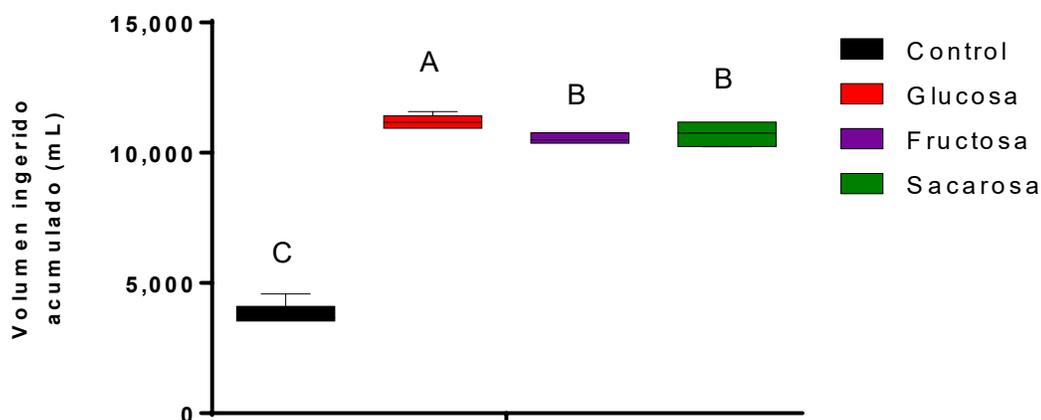


Gráfico 4.10. Diagrama de cajas y bigotes para bebida ingerida acumulada por ratas hembra

Para ambos grupos se aprecia una tendencia de consumo de bebida similar siendo el grupo que consumió más bebida el de glucosa seguido de los de sacarosa y fructosa y, por último, el control, siguiendo lo descrito por algunos autores (Martínez-Moreno y col., 2009; 2011). Ellos sugieren que los patrones en cuanto al consumo de bebida se encuentran regulados por algunos factores de importancia, siendo uno de ellos, el que las ratas desarrollan una preferencia por las bebidas dulces y, por tanto, ya que son las que les proporcionan energía de manera más simple por lo que tienden a beber más en comparación con los grupos que beben agua sin sabor. Además, ellos mencionan que los edulcorantes, principalmente la glucosa, tienden a crear un efecto adictivo en el consumidor. Esto, según la asesora de esta investigación es una falacia: En la naturaleza los seres vivos buscan fuentes de energía simples para sobrevivir y la glucosa es justamente una fuente de energía directa para las funciones metabólicas.

Si se comparan estos resultados con los obtenidos en el apartado 4.2 Alimento ingerido (Tablas 4.10 y 4.11) se observa que, para ambos géneros, los consumos de alimento y bebida presentaron una relación inversa, ya que aquellos grupos que

tuvieron el mayor consumo de alimento tuvieron el menor consumo de bebida. Es claro que la energía que requirió el roedor para cubrir con sus funciones biológicas básicas y su crecimiento provienen de la suma de la energía que proporcionan, tanto el alimento como la bebida.

El grupo control para ambos géneros fue el que consumió una mayor cantidad de alimento en relación con los demás grupos, ya que el nulo aporte energético por parte de la bebida provocó una necesidad de consumo energético en el alimento para poder mantener la homeostasis energética de la mejor manera (Simón y Del Barrio, 2002).

Tabla 4.10. Promedio de consumo de alimento y bebida ingerida para ratas macho

Grupo	Alimento consumido (g)	Bebida ingerida (mL)
Control	3,672.2 ± 168.2	5,651.9 ± 811.3
Glucosa	1,945.8 ± 167.7	12,799.8 ± 837.8
Fructosa	3,092.1 ± 22.1	10,627.6 ± 253.1
Sacarosa	2,195.9 ± 270.2	13,419.7 ± 2368.7

Tabla 4.11. Promedio de consumo de alimento y bebida ingerida para ratas hembra

Grupo	Alimento consumido (g)	Bebida ingerida (mL)
Control	2,367.7 ± 13.3	3,823.7 ± 358.5
Glucosa	1,094.6 ± 33.6	11,191.6 ± 269.4
Fructosa	1,800.7 +/- 22.0	10,554.94 ± 203.1
Sacarosa	1,428.7 ± 23.2	10,728.5 ± 468.7

En los seres vivos el sistema nervioso central recibe información del estado energético del organismo y, con base en ello, envía ciertas señales a los órganos para poder mantener un balance energético óptimo (González y col., 2006).

Esto permite establecer una estabilización de la masa corporal y de la masa grasa, a través de una red compleja de sistemas fisiológicos que regulan el aporte, el gasto y el almacenamiento de reservas energéticas (Simón y Del Barrio, 2002). Cuando se somete a los animales a cambios en el balance energético se activan procesos destinados a revertir, igualmente, los cambios producidos en el tamaño del tejido adiposo, por lo que en el caso de los grupos que consumieron los edulcorantes naturales el consumo de alimento y bebida se encuentra bien balanceado y no provoca la obesidad de los animales. Para la glucosa, por ejemplo, el alto contenido

energético ingerido en la bebida provoca señales de llenado gástrico y saciedad por medio de las hormonas específicas de la insulina y leptina no requiriendo un alto consumo de alimento sólido.

La leptina, como se mencionó anteriormente, actúa como una señal que llega al cerebro informando sobre el tamaño del tejido adiposo y actuando como factor de saciedad, reduciendo el apetito, lo que disminuye la masa corporal mediada por una reducción del depósito de grasa. En situaciones de balance energético positivo, como es el caso de los grupos que consumieron sacarosa y glucosa el nivel de leptina en la sangre aumentó provocando que los roedores no consumieran tanto alimento, manteniéndose la homeostasis energética y evitando un aumento drástico de masa corporal. La fructosa, por otro lado, no provocó el mismo efecto que estos glúcidos sobre la liberación de las hormonas, por lo que aumentó el apetito de los animales aún cuando sus necesidades energéticas estaban cubiertas con la bebida endulzada (Esquivel-Solís y Gómez-Salas, 2007), lo cual repercutió en el aumento de su masa, dando como resultado que los grupos de fructosa haya sido los de mayor incremento en masa corporal para el caso de las ratas macho y el segundo grupo con mayor incremento en masa para las ratas hembra aunque sin encontrarse diferencias significativas entre los animales modelo de los grupos en estudio en el rango de edad mencionado (ratas bebés, infantiles, prepúberes y púberes, terminando con ratas jóvenes).

Los resultados obtenidos son similares a los reportados en estudios anteriores, por ejemplo, en el estudio de Guzmán y Jiménez (2013) donde se evaluó el consumo de bebidas con edulcorantes en 120 ratas macho se obtuvo que los grupos de mayor consumo de bebida endulzada fueron el de sacarosa (10%) seguido del grupo fructosa (7%) y posteriormente el grupo control que bebió solo agua potable y de igual manera a los resultados obtenidos en este estudio esto tuvo un impacto en su patrón de alimentación ya que el consumo mayor del alimento se dio en el grupo control seguido del grupo sacarosa y por último el grupo fructosa. Aunque en este estudio no se evaluó el efecto de la glucosa sobre los parámetros antes mencionados, es razonable pensar que nuestros resultados son correctos pues el grupo glucosa tiene una alta preferencia por la bebida debido a su convertibilidad en

energía innata. Basta ver a las hormigas cuando se les ponen cristales de sacarosa cómo van por ellos, mientras que si son de fructosa no se acercan. Otro estudio realizado por Carrillo (2011) en 120 ratas macho mostró que el grupo que consumió sacarosa (10%) tuvo una mayor ingesta de bebida que el grupo fructosa (7%) y el grupo control que bebió únicamente agua potable y de igual manera tuvieron una relación inversa de consumo de alimento apoyando la idea de que el balance energético es mantenido de manera natural en los especímenes, y aunque no se tiene la misma concentración de sacarosa que en nuestro estudio (14%) aún es más alta que la concentración de sacarosa. Por último, en el estudio realizado por Mendoza-Pérez (2017) que reporta datos del consumo de todos los edulcorantes usados en este experimento, pero con concentraciones de 10% m/v para cada uno de ellos, muestra una tendencia de consumo similar a la que obtuvimos en el experimento siendo los grupos sacarosa y glucosa (no existió una diferencia significativa entre estos dos resultados) los de mayor consumo de bebida seguidos del grupo fructosa y control y una relación inversa en el consumo de alimento. Este hallazgo deberá ser estudiado con mayor profundidad, en primer lugar porque hay muy pocos resultados para comparar en el caso de las ratas hembras y en segundo lugar porque al parecer la concentración del edulcorante en la bebida podría cambiar la respuesta del espécimen y por tanto resultados diferentes.

4.4. CÁLCULO DE LA INGESTA ENERGÉTICA

Para cuantificar el consumo energético teórico de los animales, se realizó la suma del aporte energético del alimento y la bebida con edulcorante en el caso de los grupos de glucosa, fructosa y sacarosa, mientras que para el grupo control solamente se contabilizó la energía por la ingesta de alimento. De acuerdo con lo informado por el proveedor (ENVIGO, 2015), cada gramo del alimento aporta 13 kJ (3.1 kcal) por gramo mientras que la bebida que contiene glucosa aporta 2.34 kJ (0.56 kcal) / mL, la de fructosa 1.17 kJ (0.28 kcal) /mL y la de sacarosa 1.67 kJ (0.40 kcal) / mL.

Tanto para las ratas macho como para las ratas hembra la Prueba de Kolmogorov-

Smirnov (Tabla A.1, Anexo 1) mostró que las poblaciones presentaron una tendencia que se ajusta a una normal. Los resultados para la Prueba de Levene, cuyo resultado se muestra en la Tabla B.1 del Anexo 2, con valor P menor a 0.05, mostró que hubieron diferencias significativas entre las desviaciones estándar de los niveles de edulcorante con un nivel de confianza de 95%. Por tanto, el análisis de los datos se realizó por medio de la Prueba de Welch y, posteriormente, se aplicó la Prueba de Games-Howell para comparar las muestras.

En cuanto al efecto del género de los animales considerando el cálculo la ingesta energética teórica, con la Prueba de Welch se obtuvo un valor menor a 0.05 por lo que se demostró con un 95% de confianza que las medias de ambos grupos fueron diferentes y, por tanto, hubieron diferencias significativas en cuanto al efecto del género del animal sobre la sumatoria del consumo de alimento y de bebida considerados. La posterior prueba de Games-Howell pone a ambos géneros en diferentes grupos y muestra que los machos fueron a los que se les calculó el mayor consumo energético teórico presentado con una media de 51637 kJ, mientras que el de las hembras fue de 35864 kJ.

La tendencia de los cálculos por género a lo largo de los 165 días de experimentación se pudo observar en los Gráficos 4.11 y 4.12.

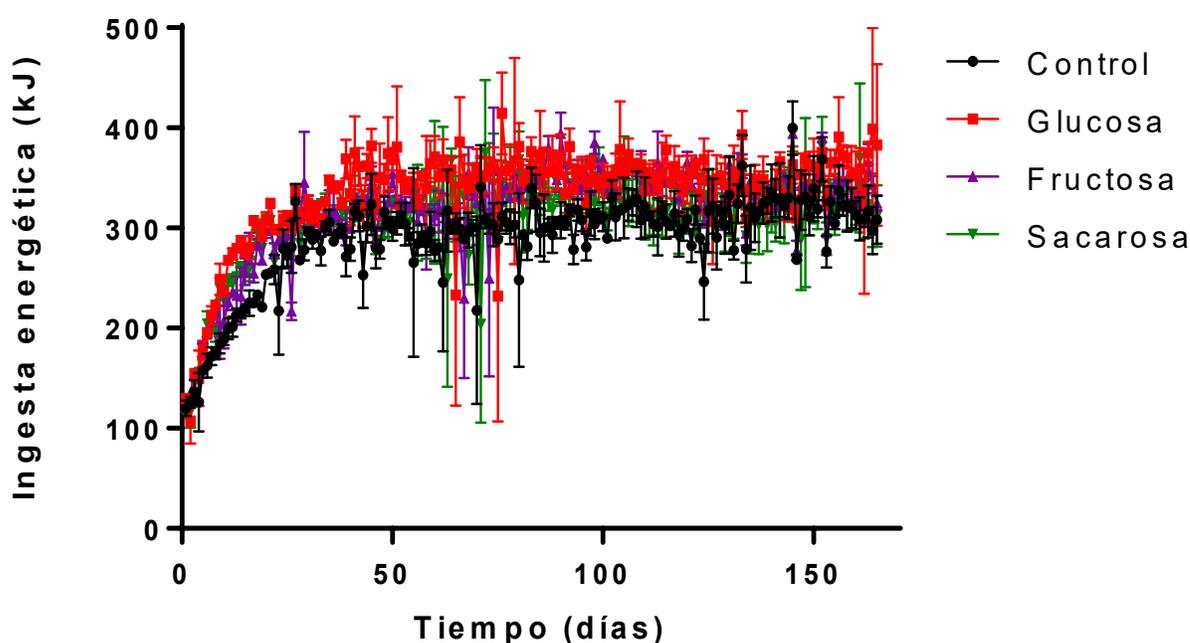


Gráfico 4.11. Ingesta energética diaria de ratas macho durante 165 días de experimentación

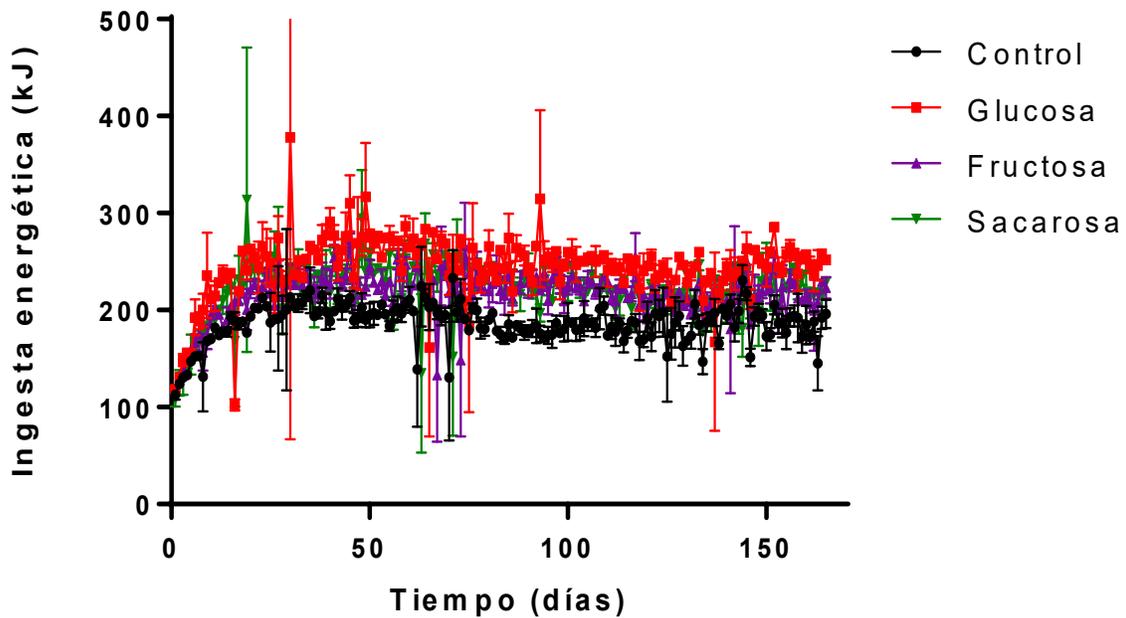


Gráfico 4.12. Ingesta energética diaria de ratas hembra durante 165 días de experimentación

En cuanto al efecto de adicionar a la energía proporcionada por el alimento la de los diferentes edulcorantes consumidos para las ratas macho, la prueba de Welch tuvo un valor menor a 0.05, por lo que se demostró con un 95% de confianza que hubieron diferencias significativas entre las medias de los grupos. Es decir, que sí hay un efecto de la energía proporcionada teóricamente por los edulcorantes sobre los patrones de ingesta energética calculados. La prueba de comparación de Games-Howell agrupó a los datos en cuatro grupos homogéneos, tal como se observa en el Gráfico 4.13. De igual manera, muestra que el grupo que tuvo mayores valores fue el de glucosa seguido del de fructosa, del de sacarosa y, por último, del grupo control.

Para el caso de las ratas hembra, la Prueba de Welch también presentó un valor menor a 0.05, por lo que también hubieron diferencias estadísticas que evidencian que hay un efecto por la cantidad de edulcorantes sobre el cálculo de la ingesta energética teórica. La Prueba de Games-Howell también agrupó a los datos en cuatro grupos homogéneos tal como se observa en el Gráfico 4.14 dando una tendencia de la cantidad de energía calculada proporcionada teóricamente por el edulcorante y el alimento consumidos, posicionando al grupo de glucosa como el de

mayor impacto en el cálculo de la energía proporcionada seguido de los grupos que ingirieron agua con sacarosa y con fructosa y, por último, el grupo control con medias de 40418, 36490, 35767 y 30779 kJ, respectivamente.

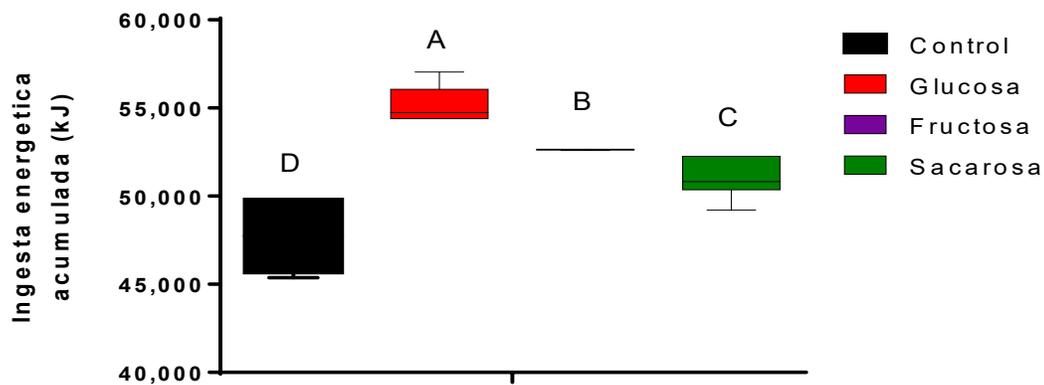


Gráfico 4.13. Diagrama de cajas y bigotes para ingesta energética acumulada de ratas macho

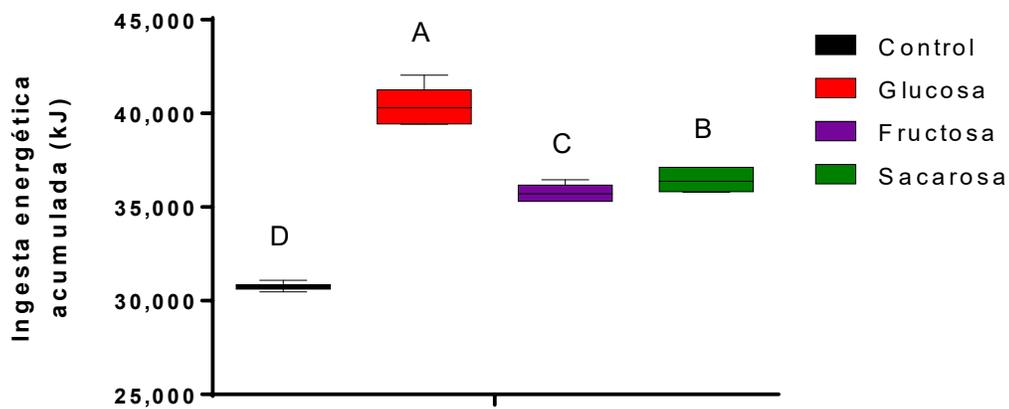


Gráfico 4.14. Diagrama de cajas y bigotes para ingesta energética acumulada de ratas hembra

Es importante mencionar que para ambos géneros existió una diferencia significativa entre la ingesta energética teórica calculada aún cuando al principio del análisis de los resultados se encontró que no habían diferencias significativas en cuanto al aumento de masa corporal entre los grupos. Por ejemplo, en el caso de las ratas hembra, el grupo que consumió glucosa y tuvo una ingesta energética teórica mayor y también tuvo el mayor incremento de masa al cabo de los 165 días de experimentación mientras que, para el caso de los machos, aunque el grupo que consumió glucosa fue el que presentó la mayor ingesta energética fue el que tuvo la menor ganancia de masa corporal de los tres grupos de edulcorantes al ser

comparado con el grupo control. Este es otro hallazgo muy trascendente que deberá ser corroborado con otros estudios, como los del efecto de los edulcorantes calóricos e hipocalóricos sobre la actividad de las enzimas reguladoras de la glucólisis y la lipogénesis: glucocinasa, piruvato cinasa, fosfofructocinasa, acetil-coenzima A carboxilasa y la sintasa de ácidos grasos en tejido hepático que se encuentran ya en ejecución (Mendoza-Pérez, 2020).

Este resultado fue de suma importancia, ya que evidencia que la ingesta energética teórica no afecta directamente la ganancia de masa corporal del individuo, tal como se muestra en algunos artículos revisados como los de Dávila-Torres y col. (2015), Duelo-Marcos y col. (2009) y Ortega y col. (2018) donde los autores mencionan que el desarrollo de las enfermedades del síndrome metabólico como la obesidad se da por múltiples razones como: Una alta masa corporal al nacer, ausencia de lactancia materna, entorno social y económico, factores genéticos, falta de actividad física, vida sedentaria y, por supuesto, una alimentación no balanceada y saludable acordes con la actividad física.

El resultado obtenido es similar al estudio de Carrillo (2011) donde reporta que la ingesta energética total de sus roedores se calculó sumando el alimento consumido y la bebida en los grupos que consumieron sacarosa y fructosa y tomando en cuenta únicamente el alimento para el grupo control. La resultados de ingesta energética para estos tres grupos tuvo una diferencia significativa, pero de igual manera que en nuestro estudio esto no tuvo un impacto directo sobre el incremento en masa de las ratas pues al hacer el análisis estadístico no se encontró una diferencia significativa. De la misma forma, la investigación realizada por Reyes y Pérez (2010) en ratas macho que consumían bebidas endulzadas con fructosa (7%) y sacarosa (10%) tuvieron resultados similares a los antes reportados. Al comparar la ingesta energética de los animales, dada por su consumo de alimento y bebida, con el grupo control (que sólo bebió agua potable) se encontró que el grupo con la mayor ingesta fue el de fructosa seguido del grupo sacarosa y por ultimo el control pero tampoco tuvieron un impacto en los resultados de incremento de masa de las ratas pues para este dato tampoco se encontró una diferencia estadística significativa.

4.5. CUANTIFICACIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO RETROPERITONEAL

Después de los tres días de adaptación de las ratas bebés al alimento sólido ya que estaban recién destetadas, se practicó una eutanasia humanitaria a 10 ratas macho y 10 ratas hembra, que se denominaron “Grupo basal”. El médico veterinario proveniente de la Facultad de Medicina, Veterinaria y Zootecnia de la UNAM extrajo, entre otros, el tejido adiposo retroperitoneal y este se pesó, obteniendo los resultados mostrados en las Tablas 4.12 y 4.13.

Tabla 4.12. Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas macho del grupo basal

Número de identificación	Masa de la rata (g)	Masa de tejido adiposo (g)	Masa de tejido adiposo (g) / masa de la rata
1	54	0.14	0.0026
2	45.1	0.18	0.0040
3	47.4	0.22	0.0046
4	39.0	0.08	0.0021
5	45.2	0.24	0.0053
6	48.4	0.28	0.0058
7	37.6	0.18	0.0048
8	40.5	0.06	0.0015
9	47.3	0.34	0.0072
10	35.6	0.30	0.0084
PROMEDIO	44.010	0.202	0.0046
Desviación estándar	5.708	0.092	0.0022

Después de realizar los análisis de normalidad y homocedasticidad (Tablas A.1 y B.1) a los datos del tejido adiposo, se realizó un análisis de varianza donde el único factor fue el género del animal y la variable dependiente fue la masa del tejido adiposo de los especímenes.

En la Tabla 4.14 se observa que el *an*deva (*ANOVA* en inglés) dio como resultado un valor P de la prueba menor a 0.05 por lo que se concluye que sí hubieron diferencias significativas entre la cantidad de tejido adiposo de las ratas bebés dependiendo del género con un 95% de confianza, pudiendo apreciarlo en el Gráfico 4.15.

Tabla 4.13. Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas hembra del grupo basal

No. identificación	Masa de la rata (g)	Masa de tejido adiposo (g)	Masa de tejido adiposo (g) / masa de la rata
1	51.80	0.48	0.0093
2	54.10	0.36	0.0067
3	64.00	0.40	0.0063
4	45.80	0.24	0.0052
5	53.70	0.34	0.0063
6	63.90	0.10	0.0016
7	42.80	0.14	0.0032
8	44.40	0.46	0.0104
9	51.40	0.46	0.0089
10	51.80	0.48	0.0093
Promedio	52.370	0.346	0.0067
Desviación estándar	7.248	0.141	0.0028

Tabla 4.14. Análisis de varianza unifactorial, andeva (ANOVA en inglés), para la cantidad de tejido adiposo de ratas macho y hembra del grupo basal

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.01682	1	0.01682	4.82	0.0414
Intra grupos	0.06278	18	0.00348778		
Total (Corr.)	0.0796	19			

Como se observa en el Gráfico 4.15, el grupo con la mayor proporción de tejido adiposo fue el de las hembras. Pero observando los datos de la Tabla 4.12 es posible percatarse de que la masa es muy desigual para algunas de las ratas por lo que la desviación estándar de la población es más grande que en el caso de los machos. Esto se debe a que, como mencionan Valiente y col. (1999), el contenido de grasa en las ratas depende de la alimentación de la madre durante el embarazo, la edad de la rata y la masa corporal de la misma y recordando que a su llegada a la UNEXA las ratas tenían una masa corporal entre 30-60 g, esta masa inicial pudo ser uno de los factores más determinantes en la cantidad de tejido adiposo de los especímenes al inicio de su destete.

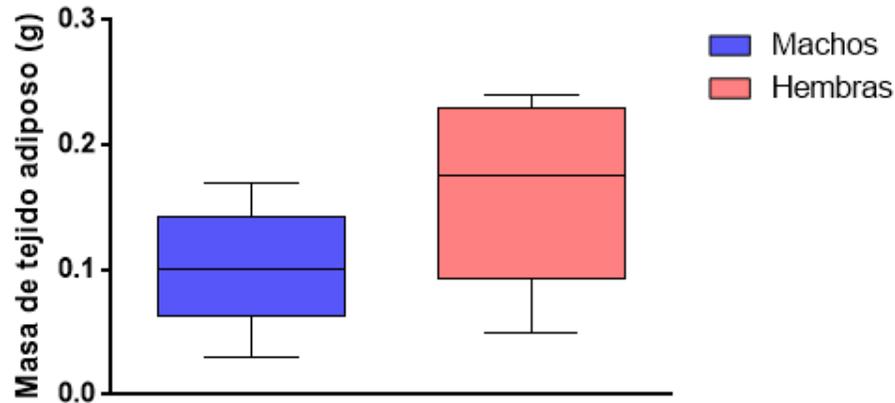


Gráfico 4.15. Diagrama de cajas y bigotes para masa de tejido adiposo de ratas macho y ratas hembra del grupo basal

Al observar las Tablas 4.12 y 4.13, los resultados de la relación masa de tejido adiposo (g) / masa de la rata, es posible observar que éstos presentaron valores muy semejantes y valores de desviación estándar pequeños por lo que se realizó un análisis de varianza con dichos datos y se encontró que no hubieron diferencias significativas entre la masa de tejido adiposo de ambos géneros en relación con su masa corporal.

Después de 165 días de experimentación, las ratas que se mantuvieron en el proyecto también recibieron una eutanasia humanitaria, extrayendo el tejido adiposo retroperitoneal. Los valores de masa obtenidos cumplieron con los supuestos necesarios para un análisis multifactorial tipo andeva (*ANOVA* en inglés) de acuerdo con el diseño experimental: Dos factores; género del animal y tipo de edulcorante. Recordando, el primer factor tuvo dos niveles: ratas macho y ratas hembra y el segundo factor tuvo 4 niveles: glucosa, fructosa, sacarosa y el grupo control.

El andeva (*ANOVA* en inglés) de la Tabla 4.15 que descompone la variabilidad de la masa del tejido adiposo en contribuciones debidas a varios factores, mostró un valor-P mayor a 0.05 para el caso del edulcorante por lo que no se presentaron diferencias significativas de este factor sobre la masa de tejido adiposo de las ratas con un nivel de confianza del 95% mientras que el género del animal sí presentó un efecto significativo sobre la masa del tejido de las ratas macho con un 95% de confianza.

Tabla 4.15. Análisis de varianza multifactorial, andeva (ANOVA, en inglés) para la masa de tejido adiposo retroperitoneal de ratas macho y hembra después de 165 días de experimentación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
A: Género	366.267	1	366.267	36.72	0.0000
B:Edulcorante	22.3865	3	7.46218	0.75	0.5307
Residuos	349.064	35	9.97326		
Total (corregido)	737.718	39			

Observando los datos de las Tablas 4.16 a 4.23 fue posible corroborar que, para las ratas macho, los valores de tejido adiposo fueron mayores en relación con los de las ratas hembra y, con ello, se confirma lo obtenido en el análisis de varianza multifactorial. Sin embargo, al realizar una relación de masa de tejido adiposo (g) / masa de la rata (g) no se observaron valores tan variados en ninguno de los géneros.

El Gráfico 4.16 muestra los resultados obtenidos apreciándose que, aunque las ratas macho presentaron una mayor cantidad de tejido adiposo, este fue proporcional a su masa corporal, al igual que en el caso de las ratas hembra.

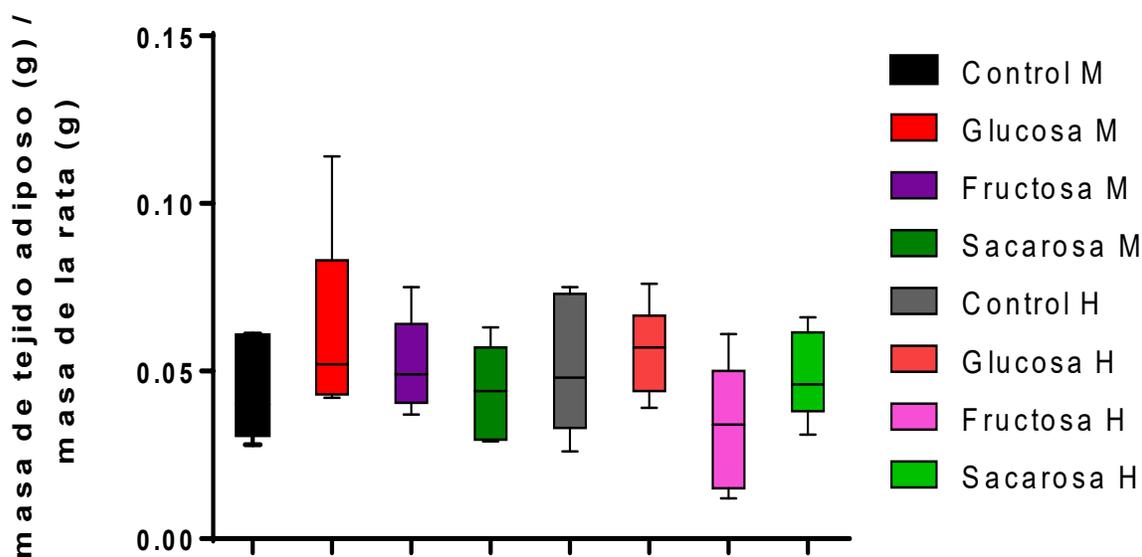


Gráfico 4.16. Relación masa de tejido adiposo (g) / masa de la rata (g) para ratas macho y hembra después de 165 días de experimentación

Para el caso del efecto de los edulcorantes en el desarrollo del tejido adiposo en las ratas macho, los resultados de las Tablas 4.16 a 4.19 y el Gráfico 4.17 permitieron observar que ninguno de los grupos que consumieron bebidas con edulcorantes calóricos tuvieron una diferencia significativa con respecto del grupo control, confirmado por el análisis estadístico anterior. Esto hace pensar que la cantidad de tejido adiposo de los animales tiene una relación directa con su masa corporal.

Aunque no se encontró una diferencia estadística en los valores, la tendencia de desarrollo de tejido adiposo para las ratas macho fue: glucosa > fructosa > sacarosa > control.

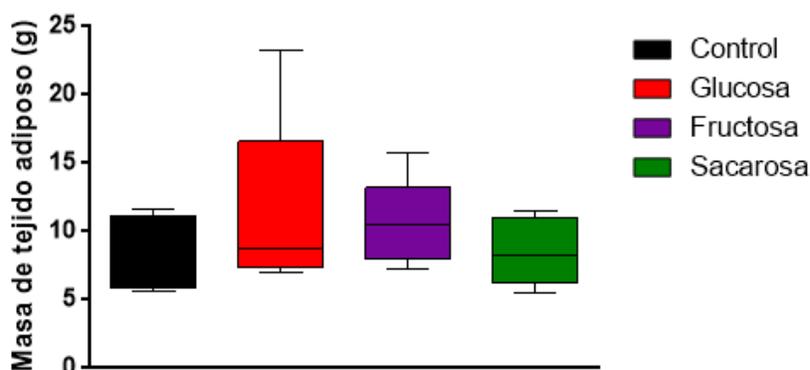


Gráfico 4.17. Diagrama de cajas y bigotes para masa de tejido adiposo de ratas macho después de 165 días de experimentación

Tabla 4.16. Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas macho del grupo control después de 165 días de experimentación

Número de identificación de la rata	Masa de la rata (g)	Masa de tejido adiposo (g)	Masa de tejido adiposo (g) / Masa de la rata (g)
2	413.6	12.2	0.029
8	308.6	12.2	0.040
55	358.7	21.6	0.060
56	327.5	11.2	0.034
57	379.3	23.2	0.061
Promedio	357.5	16.1	0.045
Desviación estándar	41.6	5.8	0.015

Tabla 4.17. Masa en gramos de tejido adiposos retroperitoneal de ratas macho del grupo que consumió glucosa después de 165 días de experimentación

Número de identificación de la rata	Masa de la rata (g)	Masa de tejido adiposo (g)	Masa de tejido adiposo (g) / Masa de la rata (g)
27	407.6	46.44	0.114
48	331.4	13.92	0.042
64	356.4	15.54	0.044
71	334.8	17.42	0.052

Número de identificación de la rata	Masa de la rata (g)	Masa de tejido adiposo (g)	Masa de tejido adiposo (g) / Masa de la rata (g)
67	386.9	20.02	0.052
Promedio	363.4	22.67	0.061
Desviación estándar	33.2	13.48	0.030

Tabla 4.18. Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas macho del grupo que consumió fructosa después de 165 días de experimentación

Número de identificación de la rata	Masa de la rata (g)	Masa de tejido adiposo (g)	Masa de tejido adiposo (g) / Masa de la rata (g)
13	397.7	21.08	0.053
17	419.1	31.38	0.075
28	390.3	14.62	0.037
38	387.2	17.16	0.044
42	437.6	21.48	0.049
Promedio	406.4	21.14	0.052
Desviación estándar	21.4	6.40	0.014

Tabla 4.19. Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas macho del grupo que consumió sacarosa después de 165 días de experimentación

Número de identificación de la rata	Masa de la rata (g)	Masa de tejido adiposo (g)	Masa de tejido adiposo (g) / Masa de la rata (g)
16	412.8	21.06	0.051
32	467.4	13.68	0.029
41	379.9	16.56	0.044
61	366.3	23.04	0.063
66	365.2	11.10	0.030
Promedio	398.3	17.10	0.043
Desviación estándar	43.1	4.97	0.014

De manera teórica, el grupo que consumió fructosa debería ser el que acumulara la mayor cantidad de tejido adiposo, ya que como se mencionó anteriormente este edulcorante no estimula la secreción de la leptina e insulina en la sangre que son las hormonas que señalan la degradación del glúcido para convertirlo en energía en lugar de almacenarlo como triacilglicéridos.

Para el caso de las hembras, los resultados del Gráfico 4.18 mostraron que el grupo ingiriendo fructosa fue el único donde la media de la población se encontró por debajo de la del grupo control.

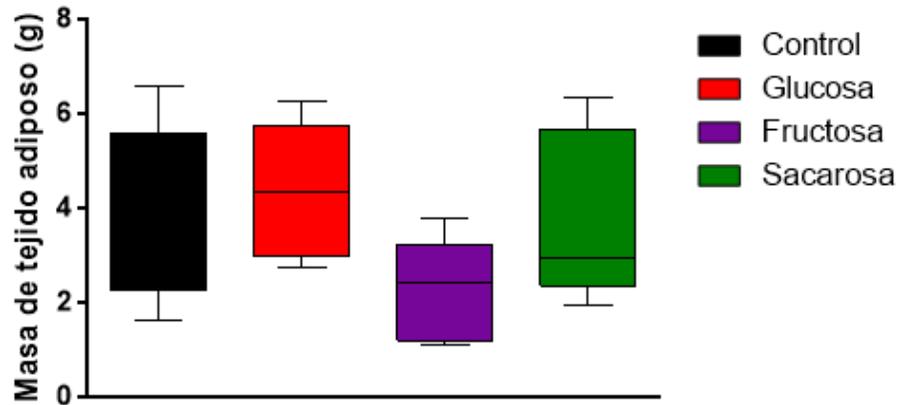


Gráfico 4.18. Diagrama de cajas y bigotes para masa de tejido adiposo de ratas hembra después de 165 días de experimentación

Sin embargo, no se aprecia claramente una diferencia con los demás edulcorantes, misma que se había encontrado en el análisis de varianza multifactorial. Observando los resultados de los promedios de la relación Masa de tejido adiposo (g) / Masa de la rata (g) de las Tablas 4.20 a 4.23 es evidente que no hubieron diferencias significativas entre este parámetro. Además, las desviaciones estándar de los datos son pequeñas, al igual que en el caso de las ratas macho. Para las ratas hembra, la tendencia de desarrollo de tejido adiposo retroperitoneal fue: glucosa > control > sacarosa > fructosa.

Estos resultados indican que, aunque ciertamente el consumo de los edulcorantes en las bebidas presenta un efecto sobre la ganancia de masa corporal y la acumulación de grasa en el tejido adiposo retroperitoneal, este efecto no es diferente al de un grupo control que no consumió dichos edulcorantes siempre y cuando el consumo se acompañe de una ingesta energética adecuada proveniente de una buena alimentación y una actividad física suficiente de acuerdo con la especie (Ponce y col., 2010), lo que tenían estos grupos modelo.

Así mismo, al igual que en el caso de los humanos, la distribución y cantidad del tejido adiposo aumenta constantemente conforme transcurren las diferentes etapas de la vida, alcanzando su máximo en la vida adulta y la distribución anatómica muestra patrones de cambio con el género. En los machos, la acumulación del tejido adiposo se da en el segmento superior del cuerpo, en el área del tronco y el abdomen, y se denomina “obesidad androide”. Para las hembras se da en el

segmento inferior, zona glúteo-femoral, dando paso a la obesidad ginoide (Pérez y col., 2010). Por ello, esta es una de las razones del por qué los machos tenían en general una mayor cantidad de tejido adiposo.

Según lo descrito por Lacasa y col. (1994), las hormonas esteroides sexuales juegan un papel importante en las diferencias regionales de acumulación de tejido adiposo entre ambos géneros, ya que además de actuar sobre los adipocitos también lo hacen sobre algunos precursores de la lipogénesis. Giudicelli y col. (1993) también mencionan que, en las ratas, los estrógenos propios de las hembras inducen el agotamiento de las reservas de grasa aumentando la respuesta lipolítica de los adipocitos intraabdominales, lo cual explica que, para todos los grupos de edulcorantes, las ratas hembra tuvieran una menor cantidad de tejido adiposo retroperitoneal tal como se muestra en las Tablas 4.20 a 4.23.

Tabla 4.20. Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas hembra del grupo control después de 165 días de experimentación

Número de identificación de la rata	Masa de la rata (g)	Masa de tejido adiposo (g)	Masa de tejido adiposo (g) / Masa de la rata (g)
6	122.8	9.24	0.075
22	186.1	13.24	0.071
57	145.5	5.80	0.040
71	129.0	3.32	0.026
41	136.3	6.54	0.048
Promedio	143.5	7.62	0.052
Desviación estándar	25.04	3.78	0.020

Tabla 4.21. Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas hembra del grupo que consumió glucosa después de 165 días de experimentación

Número de identificación de la rata	Masa de la rata (g)	Masa de tejido adiposo (g)	Masa de tejido adiposo (g) / Masa de la rata (g)
5	141.1	5.52	0.039
24	186.1	10.54	0.057
36	166.3	12.56	0.076
58	130.9	6.46	0.049
78	151.4	8.68	0.057
Promedio	155.2	8.75	0.056
Desviación estándar	21.7	2.89	0.014

Tabla 4.22. Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas hembra del grupo que consumió fructosa después de 165 días de experimentación

Número de identificación de la rata	Masa de la rata (g)	Masa de tejido adiposo (g)	Masa de tejido adiposo (g) / Masa de la rata (g)
18	125.6	7.64	0.061
28	180.8	2.24	0.012
31	136.8	5.36	0.039

Número de identificación de la rata	Masa de la rata (g)	Masa de tejido adiposo (g)	Masa de tejido adiposo (g) / Masa de la rata (g)
70	144.8	4.86	0.034
73	143.2	2.62	0.018
Promedio	146.2	4.54	0.033
Desviación estándar	20.7	2.20	0.0193

Tabla 4.23. Masa en gramos de tejido adiposo retroperitoneal de ratas hembra del grupo que consumió sacarosa después de 165 días de experimentación

Número de identificación de la rata	Masa de la rata (g)	Masa de tejido adiposo (g)	Masa de tejido adiposo (g) / Masa de la rata (g)
32	192.9	12.74	0.066
34	176.6	10.06	0.057
52	124.2	5.58	0.045
68	127.1	5.88	0.046
55	127.6	3.90	0.031
Promedio	149.7	7.63	0.049
Desviación estándar	32.6	3.64	0.132

Según el artículo de García-Carrizo y col. (2017), el envejecimiento se asocia con un mayor riesgo de alteraciones metabólicas, por lo que con el paso del tiempo la diferencia entre el tejido adiposo de las ratas macho y las ratas hembra se vuelve más grande en comparación con el grupo basal. Tal como lo describen Nadal-Casellas y col. (2013), este aumento es mucho más notable en los machos que en las hembras, ya que estas tienen un mayor potencial termogénico y una mayor sensibilidad a la insulina debido al entorno hormonal propio del género.

La forma maligna de la obesidad es la abdominal ya que se asocia con la prevalencia de patologías crónicas tales como la hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 2, insulino-resistencia, hígado graso no alcohólico y otras alteraciones en la regulación, metabolismo y secreción de hormonas como lo mencionan Baudrand y col. (2010) y Godínez y col (2002).

A continuación, con base en esos resultados y la discusión relativa a ellos, se presentan las conclusiones obtenidas de esta investigación y las recomendaciones para continuar con la investigación.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Considerando que el objetivo de este proyecto fue evaluar el efecto del consumo crónico "ad libitum" de los edulcorantes calóricos: glucosa, fructosa y sacarosa sobre los patrones de ganancia de masa corporal, el alimento consumido, la bebida ingerida y con ellos, el cálculo de la ingesta teórica de energía empleando ratas Wistar comparando su desempeño con un grupo control que no ingería edulcorantes durante 165 días de experimentación después del destete y con base en los análisis estadísticos, es posible concluir lo siguiente:

- Al realizar el análisis estadístico se encontró una diferencia significativa en el efecto del género sobre los cuatro parámetros evaluados en el estudio. Para todos los casos las ratas macho fueron las que tuvieron mayores promedios que las ratas hembra. Esto es inherente al tipo de animales modelo (ENVIGO, 2008, 2016).
- Para el incremento en masa corporal no se encontró diferencia significativa dependiendo del tipo de edulcorante consumido para ambos géneros, pero la tendencia de consumo fue fructosa > sacarosa > glucosa > control para ratas macho y glucosa > fructosa > sacarosa > control para las ratas hembra. Esto contradice el hecho de que se asocia a los edulcorantes calóricos con el exceso de masa corporal en poblaciones de mamíferos en la infancia, la niñez, la pubertad y la adolescencia.
- Para la cantidad de alimento consumido se encontró una diferencia significativa dependiendo del tipo de edulcorante consumido por los grupos de ambos géneros. La tendencia de consumo fue control > fructosa >

sacarosa > glucosa para ambos géneros sin ningún efecto sobre la ganancia de masa corporal.

- Para el consumo de bebida con edulcorante ingerida se encontró una diferencia significativa dependiendo del tipo de edulcorante consumido para ambos géneros. La tendencia de consumo fue: sacarosa > glucosa > fructosa > control para ratas macho y glucosa > sacarosa > fructosa > control para las ratas hembra. Esto es esperado ya que una fuente de energía simple es preferida para la homeostasis energética.
- Para los cálculos teóricos de ingesta energética de los especímenes se encontró que, tanto para las ratas macho como hembra, existe una diferencia significativa dependiendo del tipo de edulcorante consumido siendo la tendencia: glucosa > fructosa > sacarosa > control para el caso de las ratas macho y glucosa > sacarosa > fructosa > control para las ratas hembra. Al comparar estos resultados con los obtenidos con el incremento de masa corporal se evidenció que la ingesta energética no tiene un efecto determinante sobre el incremento en masa en esta etapa de crecimiento (destete –adolescencia) siempre y cuando la actividad física del espécimen sea correcta, su alimentación balanceada y no se caiga en excesos de consumo de alimento o bebida endulzada, que fue el caso de los animales modelo en estudio.
- Al obtener el tejido adiposo retroperitoneal de los especímenes del grupo basal, conformado por ratas recién destetadas con tres días de ingerir alimento sólido, se encontró que existe una diferencia estadística significativa dependiendo del género, siendo que las ratas hembra quienes tuvieron una cantidad mayor a los machos. Al comparar la relación de masa de tejido adiposo (g) / masa corporal de la rata (g) se encontró que, en realidad, el tejido adiposo es proporcional a la masa de la rata para ambos géneros. Este mismo resultado se encontró en el segundo grupo que recibió la eutanasia después de 165 días después del destete.
- Al realizar la eutanasia humanitaria del segundo grupo (165 días) se encontró que no existe una diferencia significativa en el desarrollo de tejido

adiposo retroperitoneal dependiendo del tipo de edulcorante que se consumió, la relación de masa de tejido adiposo (g) / masa de la rata (g) fue similar para todos los grupos y tuvo una desviación estándar pequeña lo que mostró, nuevamente, que la condición del mal llamado “sobrepeso”, más bien exceso de masa corporal, ya que el peso es una propiedad que mide fuerza y no masa corporal, en comparación con el respectivo grupo control, no depende del tipo o la cantidad de edulcorante consumido.

- La tendencia de desarrollo de tejido adiposo fue glucosa > fructosa > sacarosa > control para ratas macho y glucosa > control > sacarosa > fructosa para las ratas hembra.

5.2. RECOMENDACIONES

- Con base en los resultados obtenidos en esta investigación y habiendo observado a *grosso modo* que el efecto del consumo de los edulcorantes glucosa, sacarosa y fructosa en concentraciones similares a las de las bebidas endulzadas comerciales no es determinante para desarrollar exceso de masa corporal en los animales modelo estudiados, sería importante hacer un análisis exhaustivo del efecto metabólico que causan ya que, en varios estudios a largo plazo, se ha encontrado que alteran los mecanismos hormonales relacionados con su aprovechamiento (Mendoza-Pérez, 2017)
- Al revisar artículos relacionados con el tema se encontró que los estudios se centran mayormente en la utilización de glucosa y fructosa como edulcorantes calóricos por lo que se debería extender a la sacarosa ya que este carbohidrato ha sido satanizado por ser anteriormente el más consumido en los hogares de las personas más desfavorecidas de la sociedad a nivel global
- De igual manera, debería extenderse el estudio a edades avanzadas de grupos de ratas hembra ya que se ha demostrado que las hembras son más sensibles al consumo de alimentos con carbohidratos lo que podría explicar por qué las mujeres son las que presentan mayor incidencia en problemas de

exceso de masa corporal, obesidad y otras enfermedades relacionadas con el síndrome metabólico, como la diabetes mellitus y

- Finalmente, debe evaluarse el porqué de que, aunque teóricamente se consume una ingesta calórica mayor, esto no se refleja en la ganancia de masa corporal ni el aumento del tejido adiposo retroperitoneal.

A n e x o s

ANEXO 1

Evaluación de la normalidad de los datos con la Prueba de Kolmogorov-Smirnov

Tabla A1.1 Resultados de la Prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la normalidad de los datos

Parámetro	Valor P	Veredicto de normalidad
Incremento en masa acumulado en ratas macho	0.817	Cumple
Incremento en masa acumulado en ratas hembra	0.453	Cumple
Alimento ingerido por ratas macho	0.143	Cumple
Alimento ingerido por ratas hembra	0.176	Cumple
Volumen de bebida ingerido por ratas macho	0.039	No cumple
Volumen de bebida ingerido por ratas hembra	0.000	No cumple
Ingesta energética de ratas macho	0.293	Cumple
Ingesta energética de ratas hembra	0.120	Cumple
Masa de tejido adiposo de ratas macho del grupo basal	0.100	Cumple
Masa de tejido adiposo de ratas macho del grupo basal	0.954	Cumple
Masa de tejido adiposo de ratas macho de la segunda eutanasia	0.304	Cumple
Masa de tejido adiposo de ratas hembra de la segunda eutanasia	0.602	Cumple

ANEXO 2

Evaluación de la homocedasticidad de los datos con la Prueba de Levene

Tabla A2.1 Resultados de la Prueba de Levene para evaluar la homocedasticidad de los datos

Parámetro	Valor P	Veredicto de normalidad
Incremento en masa acumulado en ratas macho	0.255	Cumple
Incremento en masa acumulado en ratas hembra	0.766	Cumple
Alimento ingerido por ratas macho	0.000	No cumple
Alimento ingerido por ratas hembra	0.001	No cumple
Volumen de bebida ingerido por ratas macho	0.000	No cumple
Volumen de bebida ingerido por ratas hembra	0.002	No cumple
Ingesta energética de ratas macho	0.000	No cumple
Ingesta energética de ratas hembra	0.000	No cumple
Masa de tejido adiposo de ratas del grupo basal	0.187	Cumple
Masa de tejido adiposo de ratas macho de la segunda eutanasia	0.846	Cumple
Masa de tejido adiposo de ratas hembra de la segunda eutanasia	0.856	Cumple

ANEXO 3a

Historia de las ratas de laboratorio usadas en estos experimentos

(http://www.wistar.org/about_wistar/history.html)

(<https://wistar.org/wistar-archives>)

History (http://www.wistar.org/about_wistar/history.html)

(<https://wistar.org/wistar-archives>)

The Wistar Institute, the nation's first independent medical research facility, was founded in 1892. It is named for Caspar Wistar, a prominent Philadelphia physician who began his medical practice in 1787.

The Archives of The Wistar Institute were established to preserve the history of The Wistar Institute of Anatomy and Biology, its role as the nation's oldest independent biomedical research institute, and of the Wistar family as related to The Institute.



Our history extends back to the Colonial Era of Philadelphia and the role of Caspar Wistar, M.D. (1761-1818), Chair of Anatomy at the University of Pennsylvania and author of the first American textbook of anatomy.

The Wistar Institute was founded in 1892 and named for Dr. Wistar by his great-nephew Isaac Jones Wistar (1827-1905). Dr. Caspar Wistar was author of the first American textbook of anatomy and succeeded his friend Thomas Jefferson as president of the American Philosophical Society. In 1808 he became chair of the Department of Anatomy at the University of Pennsylvania School of Medicine. Dr. Wistar was cultivated in the humanities as well as the sciences and hosted the famous Wistar "parties" for leading intellectuals of the city as well as foreign visitors at his home at Fourth and Locust streets.

To augment his medical lectures and illustrate comparative anatomy, Dr. Wistar began a collection of dried, wax-injected, and preserved human specimens. The collection was enhanced by a series of models in wood and papier-mâché constructed by America's first native-born professional sculptor, William Rush. Today, The Wistar Institute Museum owns the only extant examples of Rush's anatomical models.

Two years before Dr. Wistar's death in 1818, he appointed a young physician, Dr. William Edmonds Horner, as caretaker of the museum collection. After Wistar's death, William Horner, who later served as dean of the University of Pennsylvania School of Medicine, maintained and expanded the collection of anatomical specimens. The combined collections became known as the Wistar and Horner Museum.

The Wistar and Horner Museum collections were further expanded under the curation of Dr. Joseph Leidy, who acquired animal specimens as well as fossil and anthropological samples. By the late 1880s, however, the collection had grown so large and well used that it was beginning to show signs of wear and neglect, a situation compounded by a fire in Logan Hall of the University of Pennsylvania, where the museum was housed. University Provost William Pepper began a fundraising campaign to provide for rehousing and refurbishing the Wistar and Horner collections to assure their continued availability for study and the teaching of medicine.

It was at this point that Isaac Jones Wistar, the great nephew of Dr. Caspar Wistar, stepped into the picture. A prominent Philadelphia lawyer and retired Civil War Brigadier General, Isaac J. Wistar made an initial gift to Provost Pepper's campaign to save the museum. However, Isaac Wistar then offered a more far-reaching proposal. Determined to create a lasting gift for the serious study of biological research as well as to preserve his great uncle's teaching collection, Isaac Wistar funded an endowment and research building for

The Wistar Institute of Anatomy and Biology. The University of Pennsylvania transferred the museum collections to the Institute by Deed of Gift in 1892, with the actual transfer of collections into the new building in 1894. Designed by Philadelphia architects George W. and William G. Hewitt, the original building, today still a part of the Institute's research facility, sits at the corner of 36th and Spruce streets and is listed in the National Register of Historic Places as part of the historic university area.



Isaac Jones Wistar
1852, San Francisco, CA.

Nacimiento 14 Nov 1827
Philadelphia, Philadelphia County, Pennsylvania, EE.UU.

Defunción 18 Sep 1905 (de 77 años de edad)
Claymont, New Castle County, Delaware, EE.UU.

Sepultura [Wistar Institute of Anatomy and Biology](#)
Philadelphia, Philadelphia County, Pennsylvania, EE.UU.

Shortly after the turn of the century, The Wistar Institute began to fulfill Isaac Wistar's dream of a center for "new and original research" in the biological and medical sciences. Under the leadership of Milton Greenman, M.D., and Henry Donaldson, Ph.D., the Institute developed and bred the WISTARAT, the first standardized laboratory animal. It is estimated that more than half of all laboratory rats today are descendants of the original WISTARAT line begun in 1906. The Institute also gained international recognition as a training ground for young scientists from around the world and for the scientific journals published by the Wistar Press. During World War I, when most of Europe was unable to print or purchase scientific publications, The Wistar Press sent out thousands of free journals. By 1925, the Institute had solidified its reputation as a center of American biology.

The modern era of scientific discovery at The Wistar Institute began under the leadership of Dr. Hilary Koprowski. During the 1950s, the Institute became a leader in vaccine research. This research was made possible by another Wistar discovery: a cell line known as WI-38. Developed by Leonard Hayflick, Ph.D., and Paul S. Moorhead, Ph.D., WI-38 is a strain of normal human cells that grows abundantly in the laboratory. Hayflick and Moorhead demonstrated that almost any virus introduced into WI-38 could be transformed into a safe

vaccine. Using the WI-38 cell line, Wistar scientists developed vaccines against rubella, or German measles, and rabies.

By the 1970s, Wistar was devoting a major part of its staff time and budget resources to cancer research. In 1972, in recognition of its excellent record in the study of cancer, The Wistar Institute became a National Cancer Institute-designated Cancer Center in basic science research. Thirty years later The Wistar Institute still holds that nationally recognized title.

For the past 20 years, Wistar's researchers have expanded their studies in the areas of genetics and immunology. Wistar scientists were among the first to develop monoclonal antibodies, protein molecules that are able to detect and destroy foreign invaders, including cancer cells. Wistar scientists have also identified significant genes associated with breast, lung, and prostate cancers, and a molecule known as human interleukin-12, which appears to have a profound impact on the body's immune response to cancers and infectious agents including HIV.

Today, The Wistar Institute's more than 30 laboratories are grouped into three research programs: Gene Expression and Regulation; Immunology; and Molecular and Cellular Oncogenesis. Working in the original 1892 building and the more recently added Cancer Research Building, they continue to conduct multi-disciplinary investigations on all types of cancers as well as viral and autoimmune diseases. For more than 100 years, Isaac Wistar's vision and legacy have enabled The Wistar Institute to continue its groundbreaking research aimed at improving the health of all mankind.

ANEXO 3b

Curva de crecimiento de ratas macho y hembra de la estirpe Wistar (Adaptada de Envigo (2008) y Envigo (2016))

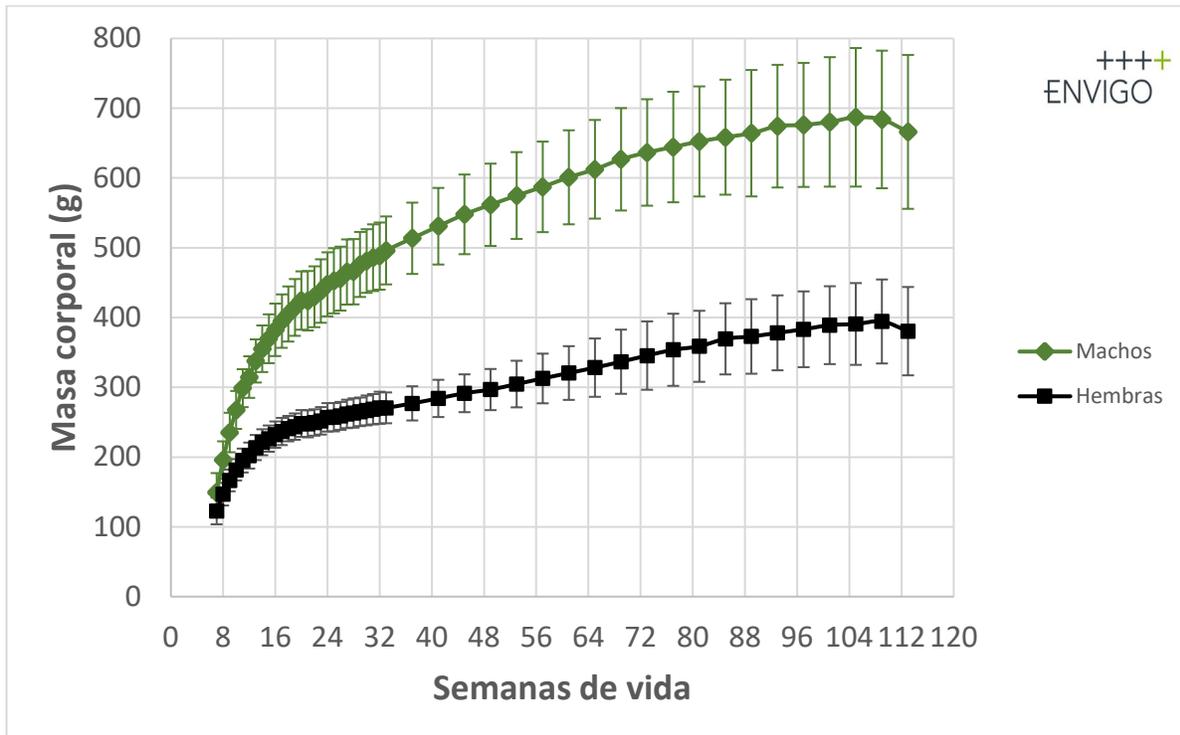


Figura A3.1. Curva de crecimiento de ratas estirpe Wistar (RccHan®: Wist) durante 104 semanas (la determinación comienza en la semana 7 de vida y termina en la 113). Media \pm 2 D.E. (Adaptada de Envigo (2008) y Envigo (2016))

ANEXO 4

Disposición de los residuos generados durante la investigación

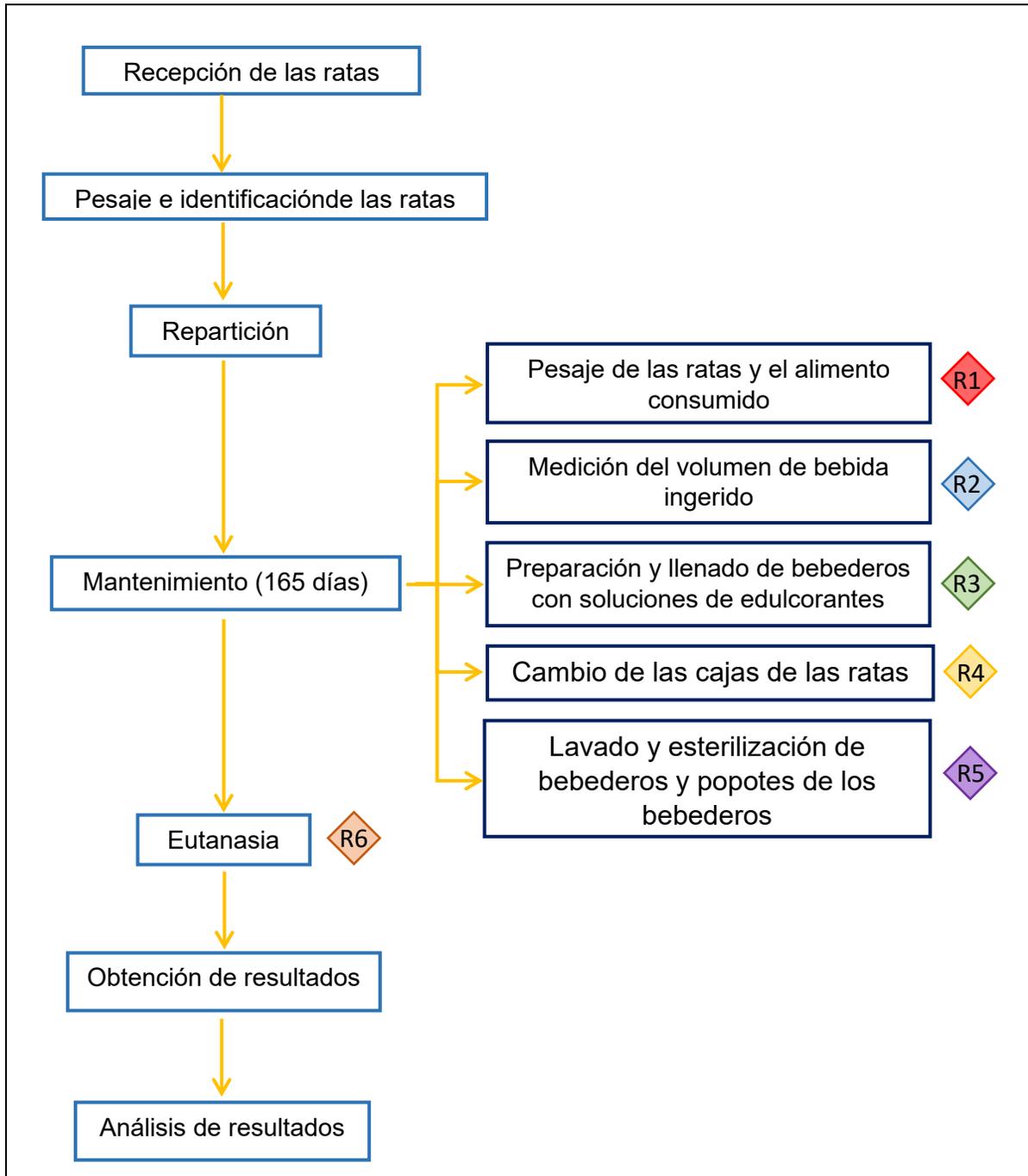


Figura A4.1. Diagrama de bloques de la disposición de residuos

R1 Alimento no consumido por las ratas, húmedo o mojado por la orina. Se recolectó en un recipiente de plástico y se vació en un contenedor especial dispuesto en la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA), siendo desechado por esta entidad.

R2 Bebida con edulcorantes no consumida por las ratas. Después de medir el volumen del líquido se recolectó en una cubeta y se desechó en la tarja ya que ninguno de los edulcorantes era peligroso en las concentraciones que se utilizaron.

R3 Bebida con edulcorantes sobrante del llenado de bebederos. Se desecharon los sobrantes de las soluciones en la tarja ya que ninguno de los edulcorantes era peligroso en las concentraciones que se utilizaron.

R4 Aserrín húmedo con orina y excretas de las ratas. Se vació el contenido completo de la caja sucia en un bote de residuos especiales dispuesto en la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA).

R5 Agua con detergente. Debido a que se utilizó un detergente ordinario para trastes se desechó en la tarja.

R6 Cuerpos sin vida de las ratas, gasas, navajas, agujas y papel manchado por sangre. Los objetos punzocortantes se colocaron en el recipiente de polietileno rojo marcado con la etiqueta de RPBI mientras que los cuerpos y los demás objetos impregnados con sangre se colocaron en bolsas de plástico marcadas con el mismo símbolo y ambos tipos de residuos se entregaron en la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA) para ser dispuestos por dicha entidad.

ANEXO 5

Fotografías del proyecto



Figura A5.1. Recepción de las ratas en la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA)



Figura A5.2. Acomodo de las ratas en la UNEXA de acuerdo con el edulcorante consumido



Figura A5.3. Pesaje del alimento consumido por las ratas en la balanza analítica

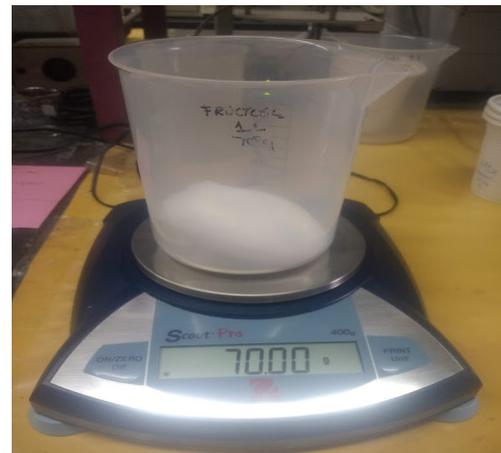


Figura A5.4. Ejemplo de pesaje de edulcorante (fructosa) en la balanza analítica



Figura A5.5. Elaboración de soluciones con los edulcorantes calóricos en matraces aforados



Figura A5.6. Medición en probetas del volumen de bebida consumido por las ratas



Figura A5.7. Identificación de los bebederos por códigos de color



Figura A5.8. Lavado de los bebederos en los Laboratorios 301, 302 y 303 del Conjunto E, FQ-UNAM



Figura A5.9. Autoclave utilizada para esterilizar los bebederos en el Laboratorio 301 del Conjunto E, FQ-UNAM

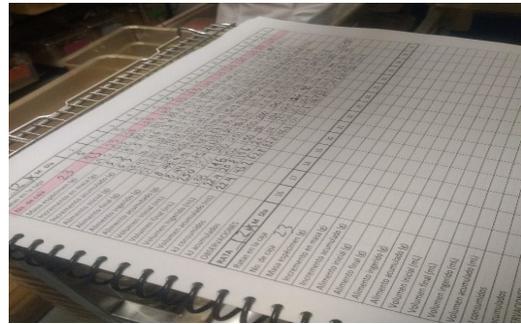


Figura A5.10. Toma de datos de alimento y bebida consumidos y masa corporal de los especímenes



Figura A5.11. Pesaje de las ratas macho en la sala 519 de la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA)



Figura A5.12. Pesaje de las ratas hembra en la sala 519 de la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA)



Figura A5.13. Cambio de cajas sucias en la sala 519 de la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA)



Figura 3.14. Ratas elegidas para la eutanasia en el Laboratorio 301 del Conjunto E- FQ- UNAM



Figura A5.15. Mesa de trabajo en la que se llevó a cabo la eutanasia de las ratas



Figura A5.16. Adormecimiento de las ratas en la cámara de CO₂



Figura A5.17. Apertura de los cuerpos por parte del M. en C. Gerardo Salas Garrido de la FMVZ de la UNAM



Figura A3.18. Obtención de los órganos necesarios por parte del M. en C. Gerardo Salas Garrido de la FMVZ de la UNAM

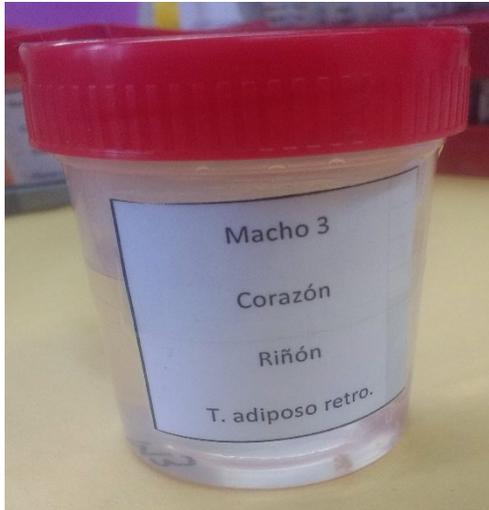


Figura A5.19. Frasco en el que se recolectaron y guardaron órganos importantes para siguientes proyectos futuros de investigación



Figura A5.20. Ejemplo de pesaje de tejido adiposo retroperitoneal de rata hembra



Figura A5.21. Vista de una rata hembra posando para la cámara



Figura A5.22. Rata macho durmiendo en su caja

Bibliografía

- ❖ Alonso, J. (2010). *Edulcorantes Naturales*. La Granja, Revista de Ciencias de la Vida. 12(2): 3-12
- ❖ Arce-Vázquez, V.M.; Fernández-Catalina, P.; Mallo-Ferrer, F. (2006). *Endocrinología*. Universidad de Vigo, Universidad de Santiago de Compostela. Pp. 262-264. España. http://books.google.com.mx/books?id=wXVb4jwwU-oC&dq=%EF%81%B6%09Arce-V%C3%A1zquez,++Endocrinolog%C3%ADa.&hl=es&source=gbs_navlinks_s
- ❖ Armstrong, F.; Bennett, P. (1982). *Bioquímica*. Reverté. P. 164. Barcelona, España
- ❖ Ayúcar, A. (2005). *Requerimientos nutricionales de energía y macronutrientes. Fisiología y fisiopatología de la nutrición*. Curso de especialización en nutrición. Capítulo 5. Pp. 53-72.
<https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/11336/CC-77%20art%205.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- ❖ Baudrand, R.; Arteaga, E.; Moreno, M. (2010). *El tejido graso como modulador endocrino: Cambios hormonales asociados a la obesidad*. Rev. Med. Chile. 138: 1294-1301
- ❖ Biesalski, H.; Grimm, P. (2007). *Nutrición: texto y atlas*. Médica Panamericana. P. 346. Madrid, España
- ❖ Bos-Klomp, E.M.N. (1995). Energy consumption and water pollution by the Mexican sugar industry. A comparative study of the Mexican cane sugar industry and the Dutch beet sugar industry. Tesis de Maestría en Ciencias. Universiteit Twente. Países Bajos.
- ❖ Carrillo, S. (2011). *Estudios estadísticos sobre los datos de ganancia en masa corporal de animales de laboratorio que ingirieron edulcorantes en el agua potable*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. Pp. 37-64. Ciudad de México, México.
- ❖ Carvajal-Carvajal, C. (2015). *Tejido adiposo. obesidad e insulino resistencia*. Med. Leg. Costa Rica. 32(2): 1-7.

<https://www.scielo.sa.cr/pdf/mlcr/v32n2/art15v32n2.pdf>

- ❖ Cascales-Angosto, M. (2015). *Lipogénesis de "novo" y termogénesis*. En Segundo curso avanzado sobre obesidad. Pp. 186-213. Real Academia Nacional de Farmacia [En línea]. Fecha de consulta: 21 de marzo de 2019. <http://anales.ranf.com/obesidad2015/files/assets/basic-html/toc.html>
- ❖ Castillo, P.; García, R.; Durán, C. (2003). *El consumo de fructosa: Riesgos para la salud y la economía*. Ciencia. 54(2): 77-84
- ❖ Castrejón, V.; Carbó, R.; Martínez, M. (2007). *Mecanismos moleculares que intervienen en el transporte de la glucosa*. REB. 26(2): 49-57
- ❖ Chiquete, E.; Tolosa, P. (2013). *Conceptos tradicionales y emergentes sobre el balance energético*. Revista de Endocrinología y Nutrición. 21(2): 59-68
- ❖ Cintra, D.; Ropelle, E.; Pauli, J. (2007). *Regulación central de la ingestión alimentaria y el gasto energético: Acciones moleculares de la insulina, la leptina y el ejercicio físico*. Rev. Neurol. 45(11): 672-682
- ❖ Cordero-Gulá, P.; Verdugo-Silva, L. (2006). *Apuntes de Bioquímica Humana. Metabolismo Intermedio*. Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. Metabolismo de los lípidos. Pp. 170-171. Ecuador.
- ❖ Cossío-Bolaños, M.; Gómez, R.; Vargas, R.; Hochmuller, R.; De Arruda, M. (2013). *Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar*. Revista Nutrición Hospitalaria. 28(6): 2151-2156. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013000600047
- ❖ Coultate, T. (2002). *Manual de química y bioquímica de los alimentos*. Acribia. Pp. 7-19. Madrid, España
- ❖ Daly, M. (2003). *Sugars, insulin sensitivity, and the postprandial state*. Am. J. Clin. Nutr. 78(4): 865-872.
- Dávila-Torres, J.; González-Izquierdo, J.; Barrera-Cruz, A. (2015). *Panorama de la obesidad en México*. Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc. 53(2): 240-249 [http://revistamedica.imss.gob.mx/editorial/index.php/revista_medica/article/viewFile/21/54](http://revistamedica.imss.gob.mx/editorial/index.php/revista_medica/article/view/File/21/54)

- ❖ DOF (2009). DIARIO OFICIAL (Primera Sección). 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. CUARTO.- Se modifica el encabezado de la tabla 13 para quedar como sigue: Tabla 21 - Reglas para la escritura de los números y su signo decimal. Signo decimal El signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (.). Si la magnitud de un número es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero. **Diario Oficial de la Federación**: jueves 24 de septiembre de 2009. Poder Ejecutivo Federal. México D.F., México.
- ❖ 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. Fecha de consulta:29/03/19
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf
- ❖ Duelo-Marcos, M.; Escribano-Ceruelo, E.; Muñoz-Velasco, F. (2009). *Obesidad*. Rev. Pediatr. Aten. Primaria. 11(16): 239-257
- ❖ ENVIGO (2016). Datos históricos de control del “peso” corporal, el consumo de alimentos y el consumo de agua en HsdRccHan TM: Wist, Wistar Hannover Rats Fecha de consulta: 22- febrero- 2020. https://www.envigo.com/resources/data-sheets/hcd_weights_body_food_water_kopiervorlage.pdf
- ❖ ENVIGO (2015). *2018 Teklad Global 18% Protein rodent diets*. Fecha de consulta 24-04-19
<https://www.envigo.com/products-services/teklad/laboratory-animal-diets/natural-ingredient/rodent/2018-diets.aspx>
- ❖ ENVIGO. 2008. *Historical and current background data*. [En línea]. (actualizado al 2008) [Último acceso: 20 de noviembre de 2018]. <https://www.envigo.com/products-services/research-models-services/models/research-models/rats/outbred/wistar-han-outbred-rat/hsdhanwist/>

- ❖ Escobar, F.; Tébar, J. (2009). *La diabetes mellitus en la práctica clínica*. Médica Panamericana. Pp. 59-63. Madrid, España
- ❖ Esquivel-Solís, V.; Gómez-Salas, G. (2007). *Implicaciones metabólicas del consumo excesivo de fructosa*. Acta Médica Costarricense. 49(4): 198-202
- ❖ Federación Mexicana de Diabetes. 2018. *Estadísticas en México*. Fecha de consulta: 3-06-19 Versión Web: <http://fmdiabetes.org/estadisticas-en-mexico/>
- ❖ Federación Mexicana de Diabetes (2017). *Infografía del síndrome metabólico*. Fecha de consulta: 23-ene-2020 <http://fmdiabetes.org/36850-2/>
- ❖ Fennema, O. (1993). *Química de los alimentos*. Acribia. P. 89. Madrid, España
- ❖ García-Carrizo, F.; Priego, T.; Szostaczuk, N.; Palou, A.; Picó, C. (2017). *Sexual dimorphism in the age-induced insuline resistance, liver steatosis, and adipose tissue function in rats*. Frontiers in Physiology. 445 (8): 1-13
- ❖ García-Chávez, L.R.; López-Medel, F.G.; Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C (2019). Foro sobre edulcorantes en alimentos y bebidas no alcohólicas en México. ATAM. 32(4): 16-20
- ❖ Gil-Hernández, A. 2010. *Tratado de Nutrición. Composición y calidad nutritiva de los alimentos* (2a Ed.). Vols. I, II, III. Panamericana. Pp. 225-226, 318. Madrid, España
- ❖ Giudicelli, Y.; Dieudonne, M.N.; Lacasa, D.; Pasquier, Y.N.; Pecquery, R. (1993). *Modulation by sex hormones of the membranous transducing system regulating fatty acid mobilization in adipose tissue*. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids. 48(1): 91-100
- ❖ Godínez, S.; Marmolejo, G.; Márquez, E.; Siordia, J.; Baeza, R. (2002). *La grasa visceral y su importancia en obesidad*. Revista de Endocrinología y Nutrición. 10(3): 121-127
- ❖ González, M.; Ambrosio, K.; Sánchez, S. (2006). *Regulación neuroendocrina del hambre, la saciedad y mantenimiento del balance energético*. Investigación en Salud. 8(3): 191-200
- ❖ González-Jiménez, E.; Schmidt-Rio-Valle, J. (2012). *Regulación de la ingesta alimentaria y del balance energético; factores y mecanismos implicados*. Revista Nutrición Hospitalaria. 27(6): 1850-1859

- ❖ González-Madariaga, Y.; Castillo-Alfonso, O.; Llerena-Bernal, T.; Perdomo-Odalys, A.; de la Barca-Barrera, M.; González-Machado, Y. (2015). *Síndrome metabólico en ratas Wistar inducido por dieta rica en sacarosa*. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 49(3): 301-309
- ❖ González-Manteiga, M.T.; Pérez-de-Vargas-Luque, A. (2009). *Estadística aplicada. Una visión instrumental*. Díaz de Santos. Pp. 503-504. Madrid, España
- ❖ Guagnelli, M. (2014). *Diabetes tipo II*. Fecha de consulta: 23-ene-2020. Versión Web: <https://endocrinologopediatra.mx/2014/11/08/hablemos-de-diabetes-la-diabetes-tipo-2/>
- ❖ Guisande, C.; Vaamonde, A.; Barreiro, A. (2006). *Tratamiento de datos con R, STATISTICA y SPSS*. Diaz de Santos. P. 107. Madrid, España
- ❖ Guzmán, M.; Jiménez, D. (2013). *Efecto 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 de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. P. 105. Ciudad de México, México
- ❖ Herman, M.; Kahn, B. (2012). *Adipose tissue de novo lipogenesis. Unanticipated benefits in health and disease*. ASBMB Today. (2): 30-32. [Texto en línea] Fecha de consulta: 21 de marzo de 2019. Disponible en: http://www.asbmb.org/uploadedFiles/ASBMBToday/Content/Archive/ASBMBToday_2012_02.pdf
- ❖ Hernández, M.; Sastre, A. (1999). *Tratado de nutrición*. Díaz de Santos. P. 57. Madrid, España
- ❖ INEGI. (2018). *Resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018*. Fecha de consulta: 23-ene-2020 Versión Web: https://www.inegi.org.mx/contenidos/programas/ensanut/2018/doc/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf
- ❖ Klomp, E.; Clancy, J.; Campos, T.; Jiménez, R.M.; Martínez-Garza, M.A.; Ríos-Enríquez, M.A.; Espinosa, A.; Luna-Pabello, V.M.; Noyola, A.; Rosales, J.; Durán-de-Bazúa, C. (1995). *Contaminación de aguas y uso de la energía en la industria azucarera, una comparación entre México y Holanda. Parte 1: Uso de*

las aguas residuales de las fábricas de etanol para la generación de energía secundaria y biomasa microbiana. En Memorias del XX Congreso de la ANI Academia Nacional de Ingeniería. Septiembre 28-30. Pp. 296-301. Veracruz, Ver., México.

- ❖ Koolman, J.; Röhm, K.-H. (2004). *Bioquímica. Texto y Atlas* (3a Ed.). Médica Panamericana. Pp. 146,150, 162-163. Madrid, España
- ❖ Lacasa, D.; Denis, D.; Agli, B.; De Mazancourt, P.; Giudicelli, Y. (1994). *Rat preadipocyte adenylyl cyclase: Influence of fat localization and androgenic status.* Biochim. Biophys. Acta. 1224(3): 527-532
- ❖ Latham, M. (2002). *Nutrición humana en el mundo en desarrollo.* FAO, capítulo 9, p.99. Roma, Italia. <http://www.fao.org/3/w0073s/w0073s00.htm>
- ❖ Marín, Z. (1988). *Elementos de nutrición humana.* EUNED. P. 49. Costa Rica. [https://books.google.com.mx/books?id=txKXD0mWGh0C&dq=%EF%81%B6+Mar%C3%ADn,+Z.+\(1988\).+Elementos+de+nutrici%C3%B3n+humana&hl=es&source=gbs_navlinks_s](https://books.google.com.mx/books?id=txKXD0mWGh0C&dq=%EF%81%B6+Mar%C3%ADn,+Z.+(1988).+Elementos+de+nutrici%C3%B3n+humana&hl=es&source=gbs_navlinks_s)
- ❖ Marqués, M. (2001). *Estadística básica, un enfoque no paramétrico.* FES Zaragoza, UNAM. Pp. 75-76. Ciudad de México, México
- ❖ Martínez, C.; González, E.; García, 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, M.; Savón, L. (2005). *Leptina, hormona clave en la regulación del consumo de alimentos y el balance energético del organismo animal.* Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 39(1): 3-12
- ❖ Martínez-Moreno, A.; López-Espinoza, A.; Díaz-Reséndiz, F.; Franco-Paredes, K.; Cárdenas-Villalvazo, A.; Aguilera-Cervantes, V.; Valdés-Miramontes, E.; Magaña-González, C.; Santoyo-Telles, F. (2011). *Ingestión de glucosa en ratas: Un bebedero vs. dos bebederos.* Revista Mexicana de Investigación en Psicología. 3(1): 8-15

- ❖ Martínez-Moreno, A.; López-Espinoza, A.; Díaz-Reséndiz, F.; Valdés-Miramontes, E. (2009). *Consumo de soluciones endulzadas en ratas albinas: Sabor vs. calorías*. *Psicothema*. 21(2): 191-198
- ❖ Mendoza-Medellín, A.; Torres-Velázquez, G. (2002). *Metabolismo energético del corazón normal e infartado*. *Ciencia ergo sum*. 9(3): 282-292
- ❖ Mendoza-Pérez, S. (2017). *Efecto de la ingesta de diferentes edulcorantes sobre la liberación de las hormonas incretinas GLP-1 y GIP y su efecto sobre la lipogénesis a largo plazo*. Tesis de maestría. Facultad de Química, UNAM. P. 38. Ciudad de México, México
- ❖ Mendoza-Pérez, S. (2020). *Efecto de los edulcorantes calóricos e hipocalóricos sobre la actividad de las enzimas reguladoras de la glucólisis y la lipogénesis: glucocinasa, piruvato cinasa, fosfofructocinasa, acetil-coenzima A carboxilasa y la sintasa de ácidos grasos*. Tesis de doctorado en proceso. Informe semestral: 2020-1. Facultad de Química, UNAM. Ciudad de México, México
- ❖ Mongay, C. (2005). *Quimiometría*. Publicaciones Universidad de Valencia. P. 133. España. [https://books.google.com.mx/books?id=3oix-tIRPAUC&dq=Mongay,+C.+\(2005\).+Quimiometr%C3%ADa&hl=es&source=gbs_navlinks_s](https://books.google.com.mx/books?id=3oix-tIRPAUC&dq=Mongay,+C.+(2005).+Quimiometr%C3%ADa&hl=es&source=gbs_navlinks_s)
- ❖ Moreno, B.; Monereo, S.; Álvarez, J. (2000). *Obesidad. La epidemia del siglo XXI* (2a Ed.). Diaz de Santos. Pp. 44-47. Madrid, España
- ❖ Msagati, T.A.M. (2013). Sweeteners. En *Chemistry of food additives and preservatives*. Wiley-Blackwell. Ch. 4. Pp. 83-100. Oxford, R.U.
- ❖ Nadal-Casellas, A.; Bauzá-Thorbrügge, A.; Proenza, M.; Gianotti, M. (2013). *Sex-dependent differences in rat brown adipose tissue mitochondrial biogenesis and insulin signaling parameters in response to an obesogenic diet*. *Mol. Cell. Biochem*. 373(1-2): 125-135
- ❖ Obregón, M. (2006). *Papel de la termogénesis en el balance energético*. Real Academia de Farmacia, 266-269. España. <https://www.academia.edu/36448220/Termogenesis>
- ❖ Olguín, M.; Posadas, M.; Revelant, G.; Labourdette, V.; Marinozzi, D.; Venezia, M.; Zingale, M. (2015). *Efectos del consumo elevado de fructosa y sacarosa*

- sobre parámetros metabólicos en ratas obesas y diabéticas. *Revista Chilena de Nutrición*. 42(2): 151-156
- ❖ OMS (2016a). *Diabetes. Temas de Salud*. Fecha de consulta: 26 de marzo de 2019 https://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/es/
 - ❖ OMS (2016b). *Obesidad y sobrepeso*. Fecha de consulta: 26 de marzo de 2019 <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
 - ❖ OMS (2015). *Diabetes*. Fecha de consulta: 26 de marzo de 2019 <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
 - ❖ Ortega, R.; Jiménez, A.; Perea, J.; Peral, A.; López, A. (2018). *Factores sociodemográficos y de estilo de vida implicados en el exceso de "peso"*. *Revista Nutrición Hospitalaria*. 35(6): 25-29
 - ❖ Peña, A.; Arroyo, A.; Gómez, A.; Tapia, R. (2004). *Bioquímica*. LIMUSA. P. 142 Ciudad de México, México
 - ❖ Pérez, E.; Serralde, A.; Meléndez, G. (2007). *Efectos benéficos y deletéreos del consumo de fructosa*. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 15(2): 67-74
 - ❖ Pérez, M.; Cabrera, W.; Varela, G.; Garaulet, M. (2010). *Distribución regional de la grasa corporal. Uso de técnicas de imagen como herramienta de diagnóstico nutricional*. *Revista Nutrición Hospitalaria*. 25(2): 207-227
 - ❖ Pinheiro, A.; Canaan, F.; Gonçalves, R. (2008). *Insulemia, ingesta alimentaria y metabolismo energético*. *Revista Chilena de Nutrición*. 35(1): 18-24
 - ❖ Plaza-Díaz, J.; Martínez- Agustín, O.; Gil- Hernández, A. (2013). *Los alimentos como fuente de mono y disacáridos: aspectos bioquímicos y metabólicos*. *Revista Nutrición Hospitalaria*. 28(4): 5-16
 - ❖ Ponce, G.; Haro, M.; Arce, M.; Níñez, A.; Esparza, J.; Mayagoitia, J. (2010). *Obesidad y tejido adiposo*. *Revista de Salud Pública y Nutrición*. 11(2): 1-8
 - ❖ Primo, E. (2007). *Química orgánica básica y aplicada (Tomo II)*. Reverté. P. 887. Barcelona, España
 - ❖ Reyes, C.; Pérez, J. (2010). *Efecto de la ingestión crónica de edulcorantes naturales y artificiales en un modelo animal en la ganancia de masa corporal*. Tesis de licenciatura. Facultad de Química, UNAM, p.61, Ciudad de México, México

- ❖ Riumallo, J. (2019). *Requerimientos y recomendaciones de energía y proteínas*. Fecha de consulta: 23/04/19.
Disponible en: <http://www.biblioteca.org.ar/libros/88605.pdf>
- ❖ Rojas-Martínez, R.; Basto-Abreu, A.; Aguilar-Salinas, C.; Zárata-Rojas, E.; Villalpando, S.; Barrientos-Gutiérrez, T. (2018). *Prevalencia de diabetes por diagnóstico médico previo en México*. Salud Pública de México. 60: 1-9
- ❖ Sengupta, P. (2013). *The Laboratory Rat: Relating its age with human's*. International Journal of Preventive Medicine. 4(6): 624-630
- ❖ Silgado, A.; Tardón, A. (2010). *Biología y geología*. Ministerio de Educación. P. 391. España.
<https://books.google.com.mx/books?id=BQ8bAgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- ❖ Simón, E.; Del Barrio, A. S. (2002). *Leptina y obesidad*. Anales del Sistema Sanitario de Navarra. 25(1): 53-64
- ❖ Stanhope, K.L.; Schwarz, J.M.; Havel, P.J. (2013). Adverse metabolic effects of dietary fructose: Results from the recent epidemiological, clinical, and mechanistic studies. *Curr. Opin. Lipidol.* 24: 198-206
- ❖ Tappy, L.; Egli, L.; Tran, C. (2014). Metabolism of nutritive sweeteners in humans. En *Fructose, high fructose corn syrup, sucrose, and health*. Rippe, J.M. Ed. Humana Press, Springer, Cap. 3, pp. 35-50. Nueva York, EEUU
- ❖ Thews, G.; Mutschler, E.; Vaupel, P. (1983). *Anatomía, fisiología y patofisiología del hombre*. Reverté. P. 317. Barcelona, España
- ❖ UNICEF (2018). <https://www.unicef.org/mexico/sobrepeso-y-obesidad-en-ni%C3%B1os-ni%C3%B1as-y-adolescentes>
- ❖ Valiente, D.; Alfonso, C.; Bernardo, M.; Molina, J.; González, V. (1999). *Crecimiento y composición corporal de las crías de ratas sometidas a restricción alimentaria*. Revista Cubana de Investigación Biomédica. 18(2): 104-110
- ❖ Vásquez-Machado, M.; Ulate-Montero, G. (2010). *Regulación del "peso" corporal y del apetito*. Acta Médica Costarricense. 52(2): 79-89
- ❖ Velázquez, G. (2006). *Fundamentos de alimentación saludable*. Editorial Universidad de Antioquia. P. 79. Colombia.

<https://books.google.com.mx/books?id=8eFgywpXq8EC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

- ❖ Voet, C.; Voet, J.; Pratt, C. (2009). *Fundamentos de bioquímica: La vida a nivel molecular* (2a Ed.). Panamericana. Pp. 459-460. Madrid, España
- ❖ WHO. (2018). *Obesidad y sobrepeso, Datos y cifras*. Fecha de consulta: 23-ene-2020. Versión Web:
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- ❖ WHO. (2016) Infografía: *Diabetes*. Fecha de consulta: 26 de marzo de 2019.
<https://www.who.int/diabetes/infographic/es/>