



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE QUÍMICA**

---

---

**ESTUDIOS HISTOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS EN DIFERENTES TEJIDOS DE  
176 RATAS MACHO Y HEMBRA DE LA CEPA WISTAR EN RELACIÓN CON  
LA INGESTA DE EDULCORANTES CALÓRICOS E HIPOCALÓRICOS**

**Tesis mancomunada**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO DE ALIMENTOS**

**PRESENTAN**

**Luis David Espinoza Pérez**

**Marilyn García Sánchez**



**Ciudad de México**

**2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **JURADO ASIGNADO**

**PRESIDENTE:** Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa  
**VOCAL:** M. en C. Lucía Cornejo Barrera  
**SECRETARIO** M. en A.I. Landy Irene Ramírez Burgos  
**1er SUPLENTE** M. en C. Rolando Salvador García Gómez  
**2do SUPLENTE** Dra. Marisela Bernal González

## **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

1. 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.
2. Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.
3. Unidad de Experimentación Animal (UNEXA), Conjunto E de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

**ASESOR DEL** Dra. María del Carmen Durán Domínguez \_\_\_\_\_  
**TEMA:** de Bazúa

**SUPERVISOR** M. en C. Carlos Gerardo Salas Garrido \_\_\_\_\_  
**TÉCNICO:**

**SUSTENTANTES:** Luis David Espinoza Pérez \_\_\_\_\_

Marilyn García Sánchez \_\_\_\_\_



## DECLARATORIA

Declaramos 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, aseguramos mediante nuestra firma al calce que el presente trabajo es original y enteramente de nuestra autoría. Todas las citas de, o referencia a, las obras de otros autores aparecen debida y adecuadamente señaladas, así como acreditadas mediante recursos editoriales convencionales

---

Luis David Espinoza Pérez

---

Marilyn García Sánchez

## RECONOCIMIENTOS

A nuestra *Alma mater* la Universidad Nacional Autónoma de México por la valiosa formación que nos ha inculcado, así como a la Facultad de Química por permitirnos desarrollar nuestros conocimientos y ser nuestra segunda casa

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo financiero de los Proyectos Clave 82788 y 178656 con los cuales se adquirieron los equipos y materiales y reactivos y consumibles empleados en esta investigación así como en la realización de la investigación llevada a cabo por el M. en C. Samuel Mendoza Pérez (parámetros bioquímicos y hormonas) y en la investigación realizada con respecto a la ganancia en masa corporal y consumo de alimento y edulcorantes, tanto del M. en C. Samuel Mendoza Pérez, como de la Q.A. Itzel Orta Méndez y Sánchez

A la Facultad de Química de la UNAM por el apoyo financiero parcial a través del Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado, PAIP, clave 50009067

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, DGAPA, de la UNAM por el apoyo financiero parcial a través de los Proyectos PAPIME (Programa de Apoyo a Proyectos de Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza) Claves EN-103704, PE-101709 y PE-1005-14 ya que con ellos también se adquirieron algunos insumos complementarios para la realización de esta investigación

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
<b>GLOSARIO</b>	1
<b>RESUMEN</b>	12
<b>CAPÍTULO 1. PROBLEMÁTICA</b>	
1.1. Justificación	13
1.2. Objetivos	17
1.2.1. Objetivo general	17
1.2.2. Objetivos particulares	17
1.3. Hipótesis	18
<b>CAPÍTULO 2. FUNDAMENTOS</b>	
2.1. Aditivos alimentarios	19
2.2. Dulzor	21
2.3. Edulcorantes	25
2.3.1. Clasificación de los edulcorantes	25
2.3.2. Edulcorantes calóricos	26
2.3.2.1. Fructosa	26
2.3.2.2. Glucosa	27
2.3.2.3. Sacarosa	28
2.3.3. Edulcorantes hipocalóricos	29
2.3.3.1. Acesulfame de potasio	29
2.3.3.2. Aspartame	31
2.3.3.3. <i>Stevia rebaudiana</i> - estevia	33
2.3.3.4. Sacarina	34
2.3.3.5. Sucralosa	34
2.4. Histología	37
2.5. Cambios celulares	38
2.6. Tejidos analizados	39
2.6.1. Corazón	39
2.6.2. Hígado	39
2.6.3. Riñones	41
2.6.4. Tejido adiposo retroperitoneal	42
2.7. Hormonas analizadas	43
2.7.1. Glucagón	43
2.7.2. Grelina	44
2.7.3. Insulina	44

	<b>Página</b>
2.7.4. Leptina	45
2.7.5. Péptido insulíntrópico dependiente de glucosa ( <i>GIP</i> en inglés)	45
2.8. Determinaciones realizadas	46
2.8.1. Colesterol total	46
2.8.2. Glucosa sérica	47
2.8.3. Triglicéridos	47
<b>CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA</b>	
3.1. Esquema general de la investigación	49
3.2. Descripción de la metodología	50
3.3. Análisis estadístico	54
<b>CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
4.1. Resultados histológicos	56
4.1.1. Corazón	56
4.1.1.1. Lipofuscina	56
4.1.1.2. Necrosis a nivel miocardio	57
4.1.2. Hígado	57
4.1.2.1. Degeneración vacuolar	57
4.1.2.2. Fibrosis e inflamación	61
4.1.3. Riñones	62
4.1.3.1. Daño glomerular	62
4.1.3.2. Degeneración celular tubular	63
4.1.4. Tejido adiposo retroperitoneal	66
4.1.4.1. Longitud mayor adipocitaria	66
4.2. Comparación de pruebas histológicas con pruebas bioquímicas	69
4.2.1. Cuantificación del péptido insulíntrópico dependiente de glucosa ( <i>GIP en inglés</i> )	69
4.2.2. Determinación de glucosa	71
4.2.3. Cuantificación de colesterol	71
4.2.4. Determinación de triglicéridos	74
4.2.5. Determinación de grelina, leptina, insulina y glucagón	76
4.2.5.1. Niveles séricos de grelina	76
4.2.5.2. Niveles séricos de leptina	76
4.2.5.3. Niveles séricos de insulina	79

	<b>Página</b>
4.2.5.4. Niveles séricos de glucagón	81
4.3 Discusión final	82
<b>CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	
5.1. Conclusiones	86
5.2. Recomendaciones	88
<b>Índice de figuras</b>	VIII
<b>Índice de tablas</b>	IX
<b>Anexos</b>	90
<b>Anexo 1.</b> Esquemas relacionados con la metodología desarrollada (Bacha y Bacha, 2012)	89
<b>Anexo 2.</b> Acervo fotográfico	90
<b>Anexo 3.</b> Tablas de resultados	92
<b>Anexo 4.</b> Gráficos de resultados	124
<b>Anexo 5.</b> Hoja técnica de la dieta AIN93M	128
<b>Anexo 6.</b> Extracto del artículo de Sengupta (2013) sobre la correlación entre la edad de las ratas Wistar y la de los seres humanos	129
<b>Anexo 7.</b> Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación	130
<b>Referencias bibliográficas</b>	131

## Índice de figuras

		<b>Página</b>
<b>Figura 1a.</b>	Estructura química de la fructosa (Melo-Cuamatzi, 2007)	27
<b>Figura 1b.</b>	Estructura química de la glucosa (Melo-Cuamatzi, 2007)	28
<b>Figura 1c.</b>	Estructura química de la sacarosa (Melo-Cuamatzi, 2007)	28
<b>Figura 2a.</b>	Acesulfame de potasio (Sánchez, 2014).	30
<b>Figura 2b.</b>	Aspartame (Sánchez, 2014)	31
<b>Figura 2c.</b>	Ciclamato de sodio (Sánchez, 2014)	31
<b>Figura 2d.</b>	Glucósidos de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Sánchez, 2014)	33
<b>Figura 2e.</b>	Sacarina (Sánchez, 2014)	34
<b>Figura 2f.</b>	Sucralosa (Sánchez, 2014)	35
<b>Figura 3.</b>	Caricatura en Scientific American sobre los resultados del grupo de Wang y colaboradores (2016) relacionados con el neuropéptido “Y” y la respuesta neurológica al ayuno (Stetka, 2016)	36
<b>Figura 4.</b>	Micrografía del músculo cardíaco (Ross y Pawlina, 2008)	39
<b>Figura 5.</b>	Micrografía de hígado (Bacha y Bacha, 2012)	41
<b>Figura 6.</b>	Micrografía del corpúsculo renal (Hansel y col., 2016)	42
<b>Figura 7.</b>	Micrografía de tejido adiposo unilocular (Ross y Pawlina, 2008)	43
<b>Figura 8.</b>	Diagrama general de la metodología seguida durante la investigación	49
<b>Figura 9.</b>	Nivel del daño de degeneración vacuolar con respecto al sexo	59
<b>Figura 10.</b>	Nivel de degeneración celular tubular para ratas hembra por edulcorante	64
<b>Figura 11.</b>	Nivel de degeneración celular tubular para ratas macho por edulcorante	65
<b>Figura 12.</b>	Nivel de longitud mayor adipocitaria para ratas hembra por edulcorante	68
<b>Figura A.1.1.</b>	Realización de corte histológico	89
<b>Figura A.1.2.</b>	Técnica de inclusión en parafina	89
<b>Figura A.1.3.</b>	Corte de los bloques	89
<b>Figura A.1.4.</b>	Baño de flotación	89
<b>Figura A.1.5.</b>	Tinción y protección	89
<b>Figura A.2.1.</b>	Rata número 123 en cámara de CO <sub>2</sub> para su eutanasia	90
<b>Figura A.2.2.</b>	Separación de órganos después de la eutanasia	90
<b>Figura A.2.3.</b>	Foto-microscopio utilizado en la FMVZ-UNAM	90

	<b>Página</b>
<b>Figura A.2.4.</b> Cortes de órganos distribuidos en un cassette	90
<b>Figura A.2.5.</b> Sistema automático de infiltración de tejidos marca Leica modelo TP1020	90
<b>Figura A.2.6.</b> Sistema modular de inclusión de tejidos marca Leica Biosystems® modelo EG1150 (A)	90
<b>Figura A.2.7.</b> Microtomo rotatorio marca Leica Biosystems® modelo RM2125 RTS	91
<b>Figura A.2.8.</b> Baño de flotación marca Leica Biosystems® modelo HI1210	91
<b>Figura A.2.9.</b> Sistema modular de inclusión de tejidos marca Leica Biosystems® modelo EG1150 (B)	91
<b>Figura A.2.10.</b> Proceso de tinción hematoxilina-eosina (H-E)	91
<b>Figura A.4.1.</b> Nivel de lipofuscina en ratas por edulcorante. A) Machos. B) Hembras	124
<b>Figura A.4.2.</b> Nivel de degeneración vacuolar en ratas por edulcorante. A) Machos. B) Hembras	124
<b>Figura A.4.3.</b> Nivel de fibrosis/inflamación en ratas por edulcorante. A) Machos. B) Hembras	125
<b>Figura A.4.4.</b> Nivel de daño glomerular en ratas por edulcorante. A) Machos. B) Hembras	125
<b>Figura A.4.5.</b> Nivel de degeneración celular tubular en ratas por edulcorante. A) Machos. B) Hembras	126
<b>Figura A.4.6.</b> Nivel de longitud mayor adipocitaria en ratas por edulcorante. A) Machos. B) Hembras	126
<b>Figura A.4.7.</b> Masa de tejido adiposo retroperitoneal en ratas por edulcorante. A) Machos. B) Hembras	127
<b>Figura A.6.1.</b> Cronología de la vida de una rata	129

### **Índice de tablas**

	<b>Página</b>
<b>Tabla 1.</b> Análisis de varianza para lipofuscina con un 95% de confianza	56
<b>Tabla 2.</b> Análisis de varianza para degeneración vacuolar con un 95% de confianza	58

		<b>Página</b>
<b>Tabla 3.</b>	Prueba de rangos múltiples por el método de Duncan al 95% de confianza para degeneración vacuolar en hígado	58
<b>Tabla 4.</b>	Análisis de varianza para degeneración vacuolar con un 95% de confianza para ratas hembra con respecto al edulcorante	60
<b>Tabla 5.</b>	Análisis de varianza para degeneración vacuolar con un 95% de confianza para ratas macho con respecto al edulcorante	60
<b>Tabla 6.</b>	Análisis de varianza para fibrosis e inflamación con un 95% de confianza	61
<b>Tabla 7.</b>	Análisis de varianza para daño glomerular con un 95% de confianza	62
<b>Tabla 8.</b>	Análisis de varianza para degeneración celular tubular con un 95% de confianza	63
<b>Tabla 9.</b>	Análisis de varianza para degeneración celular tubular con un 95% de confianza para ratas hembra con respecto al edulcorante	65
<b>Tabla 10.</b>	Análisis de varianza para degeneración celular tubular con un 95% de confianza para ratas macho con respecto al edulcorante	65
<b>Tabla 11.</b>	Análisis de varianza para longitud mayor adipocitaria con un 95% de confianza	66
<b>Tabla 12.</b>	Prueba de rangos múltiples por el método de Duncan al 95% de confianza para longitud mayor adipocitaria	67
<b>Tabla 13.</b>	Análisis de varianza de la longitud mayor adipocitaria con respecto a las ratas macho	67
<b>Tabla 14.</b>	Análisis de varianza de la longitud mayor adipocitaria con respecto a las ratas hembra	67
<b>Tabla 15.</b>	Comparación de la longitud mayor adipocitaria con respecto a los niveles de <i>GIP</i> para ratas macho	70
<b>Tabla 16.</b>	Comparación de la longitud mayor adipocitaria con respecto a los niveles de <i>GIP</i> para ratas hembra	70
<b>Tabla 17.</b>	Comparación del daño en tejido hepático y cardiaco con respecto a los niveles de colesterol para ratas macho	72
<b>Tabla 18.</b>	Comparación del daño en tejido hepático y cardiaco con respecto a los niveles de colesterol para ratas hembra	73

	<b>Página</b>	
<b>Tabla 19.</b>	Comparación de la longitud mayor adipocitaria y masa de tejido adiposo retroperitoneal con respecto a los niveles séricos de triglicéridos para ratas macho	74
<b>Tabla 20.</b>	Comparación de la longitud mayor adipocitaria y masa de tejido adiposo retroperitoneal con respecto a los niveles séricos de triglicéridos para ratas hembra	76
<b>Tabla 21.</b>	Comparación de la longitud mayor adipocitaria y masa de tejido adiposo retroperitoneal con respecto a los niveles séricos de leptina para ratas macho	77
<b>Tabla 22.</b>	Comparación de la longitud mayor adipocitaria y masa de tejido adiposo retroperitoneal con respecto a los niveles séricos de leptina para ratas hembra	77
<b>Tabla 23.</b>	Comparación del daño en tejido hepático y adiposo con respecto a los niveles séricos de insulina para ratas macho	79
<b>Tabla 24.</b>	Comparación del daño en tejido hepático y adiposo con respecto a los niveles séricos de insulina para ratas hembra	80
<b>Tabla A.3.1.</b>	Ejemplificación de la asignación de daño para cada tejido	92
<b>Tabla A.3.2.</b>	Datos experimentales de los especímenes extremos de cada lote en estudio	93
<b>Tabla A.3.2.a</b>	Dieta Teklad global, control machos	93
<b>Tabla A.3.2.b</b>	Dieta Teklad global, control hembras	94
<b>Tabla A.3.2.c</b>	Dieta AIN 93M, control machos	95
<b>Tabla A.3.2.d</b>	Dieta AIN 93M, control hembras	96
<b>Tabla A.3.2.e</b>	Dieta Teklad global, agua con fructosa, machos	97
<b>Tabla A.3.2.f</b>	Dieta Teklad global, agua con fructosa, hembras	98
<b>Tabla A.3.2.g</b>	Dieta Teklad global, agua con glucosa, machos	99
<b>Tabla A.3.2.h</b>	Dieta Teklad global, agua con glucosa, hembras	100
<b>Tabla A.3.2.i</b>	Dieta Teklad global, agua con sacarosa, machos	101
<b>Tabla A.3.2.j</b>	Dieta Teklad global, agua con sacarosa, hembras	102
<b>Tabla A.3.2.k</b>	Dieta Teklad global, agua con acesulfame de K, machos	103
<b>Tabla A.3.2.l</b>	Dieta Teklad global, agua con acesulfame de K, hembras	104
<b>Tabla A.3.2.m</b>	Dieta Teklad global, agua con aspartame, machos	105
<b>Tabla A.3.2.n</b>	Dieta Teklad global, agua con aspartame, hembras	106
<b>Tabla A.3.2.o</b>	Dieta Teklad global, agua con mezcla (acesulfame K-aspartame), machos	107
<b>Tabla A.3.2.p</b>	Dieta Teklad global, agua con mezcla (acesulfame K-aspartame), hembras	108

	<b>Página</b>	
<b>Tabla A.3.2.q</b>	Dieta Teklad global, agua con estevia, machos	109
<b>Tabla A.3.2.r</b>	Dieta Teklad global, agua con estevia, hembras	110
<b>Tabla A.3.2.s</b>	Dieta Teklad global, agua con sacarina, machos	111
<b>Tabla A.3.2.t</b>	Dieta Teklad global, agua con sacarina, hembras	112
<b>Tabla A.3.2.u</b>	Dieta Teklad global, agua con sucralosa, machos	113
<b>Tabla A.3.2.v</b>	Dieta Teklad global, agua con sucralosa, hembras	114
<b>Tabla A.3.3.</b>	Resultados generales de los parámetros evaluados durante la experimentación	115
<b>Tabla A.6.1.</b>	Correlación entre la edad de las ratas y la de los seres humanos	129

**Nota:**

Esta tesis usa el punto decimal de acuerdo con la norma respectiva Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. (DOF, 2009)

## GLOSARIO

**ACE K:** Acesulfame de potasio

**“Ad libitum”:** Expresión del latín que significa “*a placer, a voluntad*”

**Adipocito:** Células del tejido adiposo. Células secretorias endógenas y que, además, ejercen una potente actividad fagocítica y bactericida

**Aditivo:** 1) Cualquier sustancia que no se consume normalmente como alimento, ni tampoco se usa como ingrediente básico en alimentos, tenga o no valor nutritivo y cuya adición intencionada al alimento es con fines tecnológicos (incluidos los organolépticos) en sus fases de fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, resulte o pueda preverse razonablemente que resulte (directa o indirectamente) por sí o sus subproductos en un componente del alimento o un elemento que afecte a sus características (Codex Alimentarius, 1995)

2) Sustancia de carácter natural o sintético que se incorpora a los alimentos en pequeña cantidad para mantener, mejorar o conservar las características propias del alimento (FAO, 2018)

**Agua:** Líquido transparente, incoloro, inodoro e insípido en estado puro, cuyas moléculas están formadas por dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno y que constituyen el componente más abundante de la superficie terrestre y el mayoritario de todos los organismos vivos (RAE, 2018a)

**AH/B:** Teoría relacionada al actual modelo del dulzor. *Sensaciones del gusto:* Sal. El cloruro de sodio es la sustancia más asociada con un sabor "salado", pero otros compuestos pueden contribuir con menos fuerza (por ejemplo, cloruro de potasio). A altas concentraciones algunos iones metálicos contribuyen con notas jabonosas o amargas. El catión se cree que es quien brinda el sabor de la sal y el anión lo modifica. *Amargo.* Los gustos amargos se deben a la presencia de ácidos (por ejemplo, el ácido málico se usa para revestir dulces de goma para hacer "parches amargos"). *Dulce.* Muchas moléculas tienen un gusto dulce y ha habido investigación considerable en qué características moleculares son esenciales para la dulzura. El concepto es que para ser percibido como dulce, la molécula debe interactuar con un receptor nervioso en la lengua. La molécula dulce modelo es la glucosa, que llevó a la gente a pensar en la dulzura, debido a la presencia de grupos-OH (el glicerol es también bastante dulce). Sin embargo, el cloroformo y la sacarina son también dulces y carecen del grupo hidroxilo así que la teoría tuvo que ser extendida al concepto de AH/B. Según la teoría de AH/B una molécula dulce debe tener: un protón covalente ligado que enlaza

(AH), y un grupo electronegativo (B) en la misma molécula aproximadamente de 3 Angstrom. La teoría de AH/B se ha extendido desde entonces para dar cuenta de las moléculas intensamente dulces (e.g., aspartamo). El modelo para el dulzor de una molécula intensamente dulce es la estructura regular de AH/B con un grupo hidrofóbico. Se cree que todos los mecanismos del gusto deben trabajar de una manera similar a la dulzura pero la teoría que liga la estructura y la funcionalidad es aún más débil. *Amargo*. Las moléculas amargas tienen los umbrales más bajos del gusto de las sensaciones básicas del gusto. Son a menudo relativamente insolubles en agua. Así como las cuatro sensaciones principales del gusto hay algunas otras contribuciones distintas, pero más de menor importancia: acritud (calor en pimientos calientes), refrescante (mentol) y astringencia (efectos de sequía percibidos en la boca). Ciertos potenciadores del sabor (por ejemplo, el monoglutamato de sodio) tienen un sabor distinto (Flavors, 2004)

**AIN 93M:** *American Institution of Nutrition Number 93M*

**Alimento:** 1) Toda sustancia, elaborada, semielaborada o bruta, que se destina al consumo humano, incluyendo las bebidas, el chicle y cualesquiera otras sustancias que se utilicen en la fabricación, preparación o tratamiento de los alimentos, pero no incluye los cosméticos ni el tabaco ni las sustancias utilizadas solamente como medicamentos (Codex Alimentarius, 1995)

2) Producto natural o elaborado susceptible de ser ingerido y digerido, cuyas características lo hacen apto y agradable al consumo, constituido por una mezcla de nutrientes que cumplen determinadas funciones en el organismo (FAO, 2018)

**AMP<sub>c</sub>:** Adenosín monofosfato cíclico por sus siglas en inglés

**ANDEVA:** Análisis de varianza (ANOVA, en inglés)

**Aserto:** Del latín *assertus*. 1. m. Afirmación de la certeza de algo (RAE, 2018b)

**Asp:** Abreviación de aspartame

**Caloría:** Unidad de energía térmica equivalente a la cantidad de calor necesaria para elevar la temperatura de un gramo de agua de 14.5 a 15.5°C a la presión normal

**Cambio morfológico:** Alteración estructural de tejidos y células que caracteriza a una enfermedad o permite diagnosticar un proceso etiológico

**Carbohidrato:** También denominados *hidratos de carbono*. Compuestos orgánicos formados por carbono, oxígeno e hidrógeno, presentan la fórmula general  $C_x(H_{2O})_n$  y

tienen estructura de polihidroxialdehído o polihidroxiacetona; además, todos los carbohidratos presentan grupos funcionales C=O ó –OH (Baduí, 2006)

**Célula explantada:** Referido a la manipulación experimental fuera de su sitio normal de crecimiento, es decir, se traspasa a un medio de cultivo y se le suministran los nutrimentos necesarios para su óptimo desarrollo

**CO<sub>2</sub>:** Nomenclatura de dióxido de carbono

**Col.:** Colaboradores

**Concentración:** Medida de cantidad de soluto en una cantidad dada de solvente o disolución

**Daño celular:** Resultado de un “stress” celular que le impide a la célula una adaptación adecuada a las nuevas demandas del medio. La lesión puede ir desde un estado completamente reversible hasta la muerte celular

**Degeneración:** Alteración grave de la estructura celular de una parte del cuerpo. Incluye todos los cambios celulares e intersticiales

**Dejo:** Gusto o sabor que queda de la comida o bebida (RAE, 2018c).

**Desviación estándar:** También denominada desviación típica es una medida de centralización o dispersión para variables de razón y de intervalo; en estadística descriptiva se define como la raíz cuadrada de la varianza

**Diabetes:** Enfermedad sistémica, crónico-degenerativa, de carácter heterogéneo, con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales, y que se caracteriza por hiperglucemia crónica debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina, lo que afecta al metabolismo intermedio de los hidratos de carbono, proteínas y grasas (DOF, 2010)

**Diabetes mellitus:** Enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce (OMS, 2018a)

**Diabetes mellitus tipo 1:** Ver definición de *Diabetes mellitus*. Hace referencia a pacientes cuyo problema metabólico es la deficiencia absoluta de insulina

**Diabetes mellitus tipo 2:** Ver definición de *Diabetes mellitus*. Hace referencia a pacientes cuya insulina está presente, pero su cantidad no responde al aumento de su demanda (resistencia a la insulina)

**Dieta:** Mezcla de alimentos sólidos y líquidos que un individuo o grupo consume. Su composición depende de la disponibilidad de los alimentos, su costo, los hábitos alimentarios y el valor cultural de los alimentos (FAO, 2018)

**Edulcorante:** Se entiende por edulcorantes a aquellos aditivos utilizados para dar sabor dulce a los productos alimenticios y/o que son utilizados por sus propiedades edulcorantes (Navarro, 2012)

**Enfermedad:** Alteración o pérdida del estado de salud de una persona, de duración breve o prolongada que, en muchos casos, puede ser prevenida o evitada con buenos hábitos de alimentación, higiene y actividad física

**ENSANUT:** Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Instrumento de estudio estadístico realizado por el Instituto Nacional de Salud Pública y la Secretaría de Salud en México. Además, ofrece información que constituye un diagnóstico actualizado de las condiciones de salud de los mexicanos e información sobre la respuesta del sistema de salud a estas condiciones y los resultados alcanzados (ENSANUT, s.f.)

**Espécimen:** Del lat. *Specimen*. Muestra, modelo, ejemplar, normalmente con las características de su especie muy bien definidas (RAE, 2018d)

**Estructura tisular:** Disposición o modo de estar relacionados los distintos tejidos de los organismos

**FAO:** *United Nations Food and Agriculture Organization* en inglés. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

**FDA:** *Food and Drug Administration* en inglés. La FDA de los EE.UU. se encarga de proteger la salud pública mediante la regulación de los medicamentos de uso humano y veterinario, vacunas y otros productos biológicos, dispositivos médicos, el abastecimiento de alimentos en ese país, así como los cosméticos, los suplementos dietéticos y los productos que emiten radiaciones. Estas obligaciones se extienden a los 50 estados de ese país, al Distrito de Columbia, Puerto Rico, Guam, las Islas Vírgenes, Samoa Americana y otros territorios y posesiones apropiadas por los Estados Unidos en el planeta (FDA, 2017)

**Fenilcetonuria:** La fenilcetonuria (*PKU* en inglés) es un error congénito del metabolismo de la fenilalanina, causado por la ausencia de la enzima fenilalanina hidroxilasa. Esto provoca que la fenilalanina se acumule en la sangre

**Fibrosis hepática:** Cuando el hígado sufre un daño por alguna patología se repara y se forman cicatrices de matriz extracelular que aíslan la zona dañada, esto es la fibrosis. Posteriormente, a través de diferentes mecanismos, este órgano elimina la fibra que se formó para aislar el tejido dañado y repararlo (Dirección General de Divulgación de la Ciencia, 2017)

**Flavor:** Palabra que no existe en español pero que es usada en la jerga de la industria alimentaria para diferenciar el sabor (del latín *sapor*, *-ōris*, sensación que ciertos cuerpos producen en el órgano del gusto) definiéndolo como la sensación producida por los compuestos químicos presentes en un alimento cuando impresionan simultáneamente los sentidos del gusto, olfato y tacto durante la masticación. Estos compuestos casi siempre están en contacto con la matriz del alimento, donde su liberación está influenciada química y físicamente por los componentes de dicha matriz. La liberación de los compuestos responsables del “flavor” de un alimento es un requisito esencial para su percepción ([https://prezi.com/5ia6pme1z\\_0i/flavor-de-los-alimentos/](https://prezi.com/5ia6pme1z_0i/flavor-de-los-alimentos/))

**FMVZ:** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. México

**Fundus:** Es la parte del estómago que produce la grelina (*fundus —La fuente más rica de producción de grelina*) (Frühbeck y col., 2004; Gnanapavan y col., 2002)

**GIP:** *Glucose dependent insulinitropic peptide*, por sus siglas en inglés. Péptido insulino-trópico dependiente de glucosa

**GI:** Grado de libertad

**Glúcido.** Se definen como polihidroxi-aldehídos o polihidroxi-cetonas y sus derivados. Un glúcido es un aldehído (-CHO) si el oxígeno carbonílico está asociado con un carbono terminal y una cetona si el oxígeno carbonílico está unido a un carbono interno. Se presentan como monosacáridos (glúcidos individuales o simples), oligosacáridos y polisacáridos (Bradley y Peter, 1982). Es un error denominarlos azúcares como lo es confundir la masa con el peso a pesar de que el propio Codex Alimentarius y la FAO inapropiadamente utilizan el término azúcares (nota de la asesora)

**Grelina:** Hormona peptídica que actúa como factor orexigénico estimulante del hipotálamo, siendo un inductora del hambre, contraria a la leptina. Sus niveles circulantes aumentan con el ayuno (Méndez y Uribe, 2013)

**Hematoxilina - Eosina:** La coloración de hematoxilina - eosina se considera como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos, a través del microscopio fotónico. El proporcionar color a las estructuras que constituyen un tejido o un órgano se hace con la finalidad de distinguirlas entre sí y facilitar su observación (Montalvo, 2010)

**HDL:** *High density lipoprotein*, por sus siglas en inglés. Lipoproteína de alta densidad

**Hormonas del apetito ("hunger hormones"): Leptina y grelina:** La leptina hecha por las células grasas hace que se reduzca el apetito y la grelina es la hormona que incrementa el apetito y tiene un importante rol en la masa corporal

**IMC:** Índice de masa corporal

**JECFA:** *Joint Expert Committee on Food Additives* en inglés. El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios es un comité científico internacional de expertos administrado conjuntamente por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Ha venido reuniéndose desde 1956, inicialmente para evaluar la inocuidad de los aditivos alimentarios (FAO, 2018)

**LDL:** *Low density lipoprotein*, por sus siglas en inglés. Lipoproteína de baja densidad

**Lipofuscina:** Es un pigmento exógeno fagocitado por los macrófagos, no eliminable. Es frecuente observarlo en los ganglios intertraqueobronquiales. Se encuentra en las células con gran desgaste, producto de la actividad de los lisosomas; aumenta con la edad de la célula. Se aprecia en las células musculares y en las neuronas y constituye una inclusión natural (Fortoul y col., 2018)

**LMA:** Longitud mayor adipocitaria

**LS:** *Least squares*, por sus siglas en inglés. Mínimos cuadrados

**Masa:** Se define como la masa de un cilindro de aleación de platino-iridio que se conserva en el Laboratorio Internacional de Pesas y Medidas en Sèvres, Francia. La unidad del SI de masa es el kilogramo (kg) (Serway y Jewett Jr., 2005)

**Masa corporal:** Hace referencia a la masa de las ratas utilizadas durante la experimentación

**Masa versus peso:** La masa es la cantidad de materia de los cuerpos. La unidad de medida de la masa es el kilogramo (kg) y se mide usando una balanza. La masa (la cantidad de materia) de cada cuerpo es atraída por la fuerza de gravedad de la Tierra. Esa fuerza de atracción hace que el cuerpo (la masa) tenga un peso, que se cuantifica con una unidad diferente: el Newton (N). Un ejemplo simple: Un niño cuya masa se puede calcular en unos 36 kilogramos (medidos en la Tierra, en una balanza), pesa (en la Tierra, pero cuantificados con un dinamómetro) 352.8 Newtons (N). Si este niño estuviera en la Luna, su masa seguirá siendo la misma (la cantidad de materia que lo compone no varía, sigue siendo el mismo niño, el cual puesto en una balanza en la Luna seguirá teniendo una masa de 36 kilogramos), pero como la fuerza de gravedad de la Luna es 6 veces menor que la de la Tierra, el niño PESARÁ 58.68 Newtons (N).  
Diferencias entre masa y 'peso'

<b>Características de masa</b>	<b>Características de peso</b>
1. Es la cantidad de materia que tiene un cuerpo.	1. Es la fuerza que ocasiona la caída de los cuerpos.
2. Es una magnitud escalar.	2. Es una magnitud vectorial.
3. Se mide con la balanza.	3. Se mide con el dinamómetro.
4. Su valor es constante, es decir, independiente de la altitud y latitud.	4. Varía según su posición, es decir, depende de la altitud y latitud.
5. Sus unidades de medida son el gramo (g) y el kilogramo (kg).	5. Sus unidades de medida en el Sistema Internacional son la dina y el Newton.
6. Sufre aceleraciones.	6. Produce aceleraciones.

**Metabolismo:** Es un proceso continuo de los organismos vivos. Se trata fundamentalmente de la química de la vida. La tasa metabólica de un organismo es la tasa de consumo de energía derivando en los nutrientes que lo sustentan. Los organismos consumen energía mediante la conversión de energía química a calor y trabajo externo; tal como caminar o el movimiento de cualquier manera, se genera fricción, por lo tanto, una medida viable de la tasa metabólica en la que un organismo produce calor (Shuman, 2013)

**MTP:** Proteína microsomal transferidora de triglicéridos por sus siglas en inglés

**Necrosis:** "Necrosis" se refiere a la degeneración de las células o los tejidos después de la muerte celular; ocurre por alguna razón, generalmente en regiones localizadas del cuerpo. Es decir, la necrosis es la degeneración tisular, que ocurre secundaria a la

muerte celular por cualquier causa. La necrosis es comúnmente el resultado de la isquemia, lesión traumática, infección bacteriana o toxinas (incluyendo esteroides o exceso de alcohol) (Montvilo, 2013)

**NAFLD:** *Non-alcoholic fatty liver disease* por sus siglas en inglés. Enfermedad del hígado graso no alcohólico

**Nutrición:** Es referido a la cantidad de calorías necesarias para mantener una masa corporal saludable durante cada fase del ciclo de vida dependiendo de la cantidad de energía utilizada. Es decir, mayores requisitos calóricos son encontrados cuando la masa corporal es relativamente grande y la producción de energía es relativamente alta, tal y como se observa más tarde en la adolescencia y en la edad adulta joven (Chapman-Novakofski, 2013)

**Obesidad:** La obesidad se produce cuando la ingesta de calorías excede las necesidades del individuo y, por lo tanto, se almacena en el cuerpo esa energía en forma de tejido adiposo para usarse cuando la ingesta sea menor que las necesidades. Aunque la masa corporal normal varía con la edad, sexo y estatura, para cada grupo humano, hay indicadores de obesidad. Estos indicadores habituales de la obesidad se basan en la suposición de que las variaciones en la masa corporal a distintas estaturas son atribuibles a la grasa del cuerpo y a menudo se calcula con el índice de masa corporal (IMC) (Chapman-Novakofski, 2013) aunque esta es una primera aproximación y debe, posteriormente, buscarse un mejor indicador para cada grupo humano (Campos-Acevedo, 2017)

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**Patología:** Es el estudio de los cambios anatómicos de la enfermedad, lo que ha permitido, por un lado, identificar mecanismos de diversos padecimientos y por otro, ha ayudado a prevenir un sinnúmero de enfermedades. Es decir, es el campo de la medicina que trata de conocer y explicar, con base racional, las condiciones bajo las que se da la enfermedad, sustentándose en el estudio de todos sus aspectos (Valencia y Ancer, 2014)

**Peso:** Ver arriba “masa versus peso”

**PKA:** *Protein kinase AMP<sub>c</sub> dependent* en inglés. Proteína quinasa dependiente de AMP<sub>c</sub>

**PKU:** *Phenylketonuria* por sus siglas en inglés. Abreviación de fenilcetonuria

**Pletismografía:** Método basado en la medición de cambios de presión y volumen que se utiliza para medir parámetros orientados al diagnóstico de enfermedades pulmonares o cardiovasculares. Viene del griego *plethusmos*, que significa agrandamiento. Determina el volumen de gas compresible dentro del tórax, para lo que se basa en la ley de Boyle, que dice que en un sistema cerrado a temperatura constante el producto de la presión (P) por el volumen (V) del gas es siempre constante (k): El método nació a fines del siglo XIX cuando investigadores alemanes [Bert (1878), Gad (1881) y Pflüger (1882)] midieron su propio volumen de gas intratorácico aplicando la Ley de Boyle. En primera instancia sus objetivos eran los de relacionar las variaciones en la presión alveolar con las variaciones simultáneas de volumen pulmonar. Utilizaron cámaras de madera que los cubrían de cuerpo entero y los comunicaban por medio de un espirómetro. Esto supuso el nacimiento del pletismógrafo a presión, en el cual en una caja de aire comprimido los cambios en el volumen de gas intratorácico pueden ser obtenidos mediante los cambios simultáneos de la presión del gas de dicha caja (Criée y col., 2006; 2009).

**Poder edulcorante:** Se refiere a la capacidad de un edulcorante en generar la sensación de dulzor en comparación con la sacarosa

**Preservante:** Sustancia que añadida a ciertos alimentos sirve para conservarlos (RAE, 2018e).

**Quilomicrones:** Lipoproteínas sintetizadas en el epitelio del intestino caracterizadas por poseer baja densidad (inferior a 0.94) y gran diámetro, entre 75 y 1200 nm

**REB:** Abreviatura de rebaudiósido, extraído de la planta *Stevia rebaudiana* conocida como estevia

**Salud pública:** La salud pública es una práctica que se centra en la promoción de la salud física, mental, social y de salud y bienestar, además, tiene influencia sobre la prevención de la enfermedad y la discapacidad, entre grupos de personas (Thivierge, 2014)

**Secretar:** Derivado del latín *secrētum*, supino de *secernĕre* 'segregar'. 1. tr. Biol. segregar (|| expulsar una sustancia) (RAE, 2018f).

**Sedentarismo:** Término que se refiere a la falta de actividad física necesaria para obtener beneficios en la salud. Esto se debe en parte a la insuficiente participación en la actividad física durante el tiempo de ocio y a un aumento de los comportamientos sedentarios durante las actividades laborales y domésticas. El aumento del uso de los medios de transporte "pasivos" también ha reducido la actividad física (OMS, 2018b)

**Síndrome metabólico:** Conjunto de alteraciones metabólicas constituido por la obesidad de distribución central, la disminución de las concentraciones del colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (cHDL), la elevación de las concentraciones de triglicéridos, el aumento de la presión arterial (PA) y la hiperglucemia (Zimmet y col., 2005).

**Sobrepeso:** Término muy usado en la literatura científica y en la sociedad pero que conceptualmente es erróneo ya que el peso no es sinónimo de la masa (ver arriba). En todo caso debiera decirse “sobremasa” o exceso de masa corporal aunque sean cuatro palabras (nota de la asesora)

**Técnica histológica:** Se denomina técnica histológica al conjunto de procedimientos aplicados a un material biológico (animal o vegetal) con la finalidad de prepararlo y conferirle las condiciones óptimas para poder observar, examinar y analizar sus componentes morfológicos a través de los microscopios fotónicos y electrónicos (Montalvo, 2010)

**Teklad:** Dieta suministrada a las ratas macho y hembra (excepto a las ratas de control *A/N 93M*) durante la investigación. Esta dieta asegura los nutrientes necesarios para el óptimo crecimiento de los roedores (Envigo, 2018)

**Tinción:** El procedimiento de coloración o tinción consiste en que una estructura celular o tisular adquiere específicamente un color bajo la acción de una sustancia colorante. Se considera que una estructura se ha coloreado o teñido cuando al ser lavada con el líquido que disuelve al colorante, no se decolora (Montalvo, 2010)

**U.A.:** Abreviatura de unidades arbitrarias. Estas unidades se realizaron con base en la numeración asignada para cada nivel de daño en tejido adiposo, cardiaco, hepático y renal (Vea sección **3.3. Análisis estadístico** del **Capítulo 3. Metodología**)

**Umami:** Una categoría de sabor adicionada en la jerga alimentaria (además de los conocidos dulce, amargo, salado y ácido), que corresponde a la sensación provocada por la adición a los alimentos procesados de los glutamatos, especialmente del monoglutamato de sodio

**UNEXA:** Unidad de Experimentación Animal. Conjunto E, Facultad de Química, UNAM, México

**UNICEF:** Fondo Internacional para Emergencias de las Naciones Unidas para la Infancia (*United Nations International Children's Emergency Fund*, por sus siglas en

inglés). Se enfoca en promover los derechos y el bienestar de todos los niños, niñas y adolescentes en México y en el mundo (UNICEF, 2018)

**VLDL:** Siglas en inglés para lipoproteínas de muy baja densidad

**Wistar:** Cepa de ratas macho y hembra utilizadas durante esta investigación. Se caracterizan por su cabeza ancha, orejas largas, y con una longitud de la cola que es siempre inferior a la longitud de su cuerpo. Las ratas Wistar son más activas que otras cepas y fue la primer cepa de ratas desarrolladas para servir como un organismo modelo (Laboratorio de Ensayos Biológicos, 2014)

## RESUMEN

En los últimos años la estimación mundial sobre la prevalencia del exceso de masa corporal y la obesidad en adultos se ha incrementado un 40% observándose la misma tendencia en niños y adolescentes. Esto es debido en parte a la omnipresente exposición a alimentos ricos en calorías y a una vida sedentaria, aunados al cada vez más excesivo consumo de alimentos procesados en fábricas que contienen aditivos químicos cuyos efectos sobre el metabolismo no han sido suficientemente estudiados. En este trabajo, con la finalidad de evaluar el efecto de los aditivos conocidos como edulcorantes calóricos e hipocalóricos, se realizó el análisis histopatológico de algunos órganos (corazón, hígado y riñones) y del tejido adiposo retroperitoneal de 176 animales modelo machos y hembras que estuvieron en experimentación durante 120 días. En dicho estudio, ratas Wistar recién destetadas se alimentaron con la dieta Teklad Global. Hubo dos grupos control, uno que consumió la dieta *AIN93M* y otro la dieta Teklad Global. Ambos grupos solamente ingirieron agua potable como bebida. En cuanto a los grupos de prueba, los edulcorantes calóricos suministrados en el agua potable fueron la glucosa, la fructosa y la sacarosa a una concentración del 10%. Los edulcorantes hipocalóricos también suministrados en el agua potable a los grupos de ratas correspondientes fueron el aspartame a 0.3%, el acesulfame de potasio a 0.05%, la infusión de hojas de *estevia* (*Stevia rebaudiana* Bertoni) a 0.94%, una mezcla comercial de aspartame con acesulfame de potasio a 0.15%, la sacarina a 0.033% y la sucralosa a 0.017%. Todos los edulcorantes fueron suministrados *ad libitum*. Transcurridos los 120 días de experimentación y después de practicarles la eutanasia con CO<sub>2</sub>, se procedió a separar los órganos de interés transfiriéndolos a una solución de formol al 10% v/v con la finalidad de desnaturalizar y coagular las proteínas provocando el endurecimiento del tejido para, posteriormente, fijar las muestras de los órganos a analizar y de esta manera visualizar algún daño histológico con la ayuda de la tinción de Hematoxilina-Eosina (HE). La observación de los tejidos se logró con la ayuda de un foto-microscopio a un aumento de 40X. En el caso de corazón se evaluó la presencia del compuesto lipofucsina, observándose que los mayores niveles séricos de colesterol estimularon dicho pigmento. Por otra parte, se valoró el parámetro de necrosis a nivel miocardio corroborando que ningún animal en estudio presentó tal característica. En el tejido hepático se evaluó la degeneración vacuolar resultando que las ratas hembras tienden a presentar un daño hepático mayor que los machos. También se evaluaron en el plasma sanguíneo los siguientes parámetros: Leptina, grelina, insulina y glucagón, así como el péptido insulínico dependiente de glucosa, *GIP* en inglés y las concentraciones de colesterol total, glucosa y triglicéridos. Se destaca que, con relación al tejido renal, no existió diferencia estadísticamente significativa para el daño glomerular. Sin embargo, el comportamiento de los edulcorantes en hembras y machos no fue el mismo para la degeneración celular tubular. Se evaluó la longitud adipocitaria del tejido adiposo retroperitoneal, teniendo que las ratas macho presentaron una media superior a las ratas hembra. La fructosa fue el edulcorante que generó la mayor longitud adipocitaria en el caso de las ratas hembra. De igual forma, es importante mencionar que el edulcorante fructosa presentó el mayor nivel del péptido insulínico dependiente de glucosa (*GIP*) induciendo una longitud adipocitaria menor. Además, los edulcorantes fructosa y sacarosa presentaron los mayores niveles séricos de triglicéridos estimulando que la longitud adipocitaria aumentara.

**Palabras clave:** *Edulcorantes, histología, hígado, riñones, corazón, tejido adiposo retroperitoneal, GIP (péptido insulínico dependiente de glucosa), glucagón, grelina, leptina, insulina, glucosa, triglicéridos, colesterol total*

# CAPÍTULO 1

## PROBLEMÁTICA

### 1.1. Justificación

De acuerdo con Lorenzoni y col. (2017) “México ha sido uno de los países con las mayores tasas de obesidad en el mundo. En años recientes, se han realizado varias políticas de salud a nivel nacional e internacional con la finalidad de enfrentar la epidemia de la obesidad, especialmente, entre los niños”. Con el paso de los años, estudios relacionados con la obesidad han ido aumentando debido a que las patologías observadas conllevan a temas severos de salud como fallas metabólicas tempranas (incremento en la resistencia a la insulina) y problemas cardiovasculares (incremento en el grosor de la capa íntima-media e incremento de la presión arterial) induciendo enfermedades del corazón (hipertensión, enfermedad coronaria e infarto) y alteraciones en el metabolismo (diabetes tipo dos) en la adultez (Lorenzoni y col., 2017). Lorenzoni y col. (2017) mencionan que “de acuerdo con la ENSANUT el 37% de los niños presentaron obesidad y un exceso de masa corporal en 2012”. Además, según el Fondo Internacional de Emergencia de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF, 2017) “la causa principal de esta patología son los malos hábitos en la alimentación”.

Dicho esto, es posible plantear que una dieta equilibrada puede evitar la prevalencia en la obesidad y el exceso de masa corporal.

De igual forma, Shamin y Syed (2016) mencionan que “en las últimas tres décadas (1980 a 2013) la prevalencia mundial del exceso de masa corporal y la obesidad en niños, adolescentes y adultos se ha incrementado un 40%”. Tal y como se especifica con anterioridad, el consumo de alimentos ricos en calorías y la falta de actividad física influyen en un aumento de dichas patologías. Sin embargo, también se sugiere la existencia de factores genéticos que aumentan la vulnerabilidad en el Índice de Masa Corporal (Shamim y Syed, 2016).

Durán y col. (2015) mencionan que “a nivel mundial, entre las regiones con mayor prevalencia de obesidad se encuentra Sudamérica y América Central, países en transición nutricional, donde se ha incrementado la prevalencia de hiperlipidemias, exceso de masa corporal o sobremasa y obesidad. El Índice de Masa Corporal (IMC) en las mujeres de estas regiones aumentó de 1.3 a 1.4 puntos por década, lo cual sólo fue superado por Oceanía. La prevalencia de obesidad en Latinoamérica presenta una gran variabilidad que va del 9.9 al 35.7%”. De igual forma, el Fondo Internacional de Emergencias de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF, 2017) menciona que la diabetes “es el mayor problema al que se enfrenta el sistema nacional de salud; es la principal causa de muerte en adultos, la primera causa de demanda de atención médica y la enfermedad que consume el mayor porcentaje de gastos en las instituciones públicas”.

A consecuencia de esta problemática se ha observado que la población comienza con la ingesta de dietas para pérdida de masa corporal, rutinas de acondicionamiento físico y el consumo de productos alimenticios bajos en calorías (Durán y col., 2015). Es por ello que la industria alimentaria comienza a tener un crecimiento exponencial dentro del sector de aditivos alimentarios, enfocados directamente en la elaboración de edulcorantes hipocalóricos ayudando a igualar la percepción dulce en los productos alimenticios como bebidas carbonatadas, productos lácteos, concentrados para elaboración de bebidas, productos de confitería, entre otros, lo que ha generado que la población limite el consumo de edulcorantes calóricos como la sacarosa o la glucosa sustituyéndolos por edulcorantes hipocalóricos como la sacarina o el aspartame (Méndez y Uribe, 2002). Es importante mencionar que desde hace muchos años el hombre ha buscado la percepción dulce en los alimentos que consume; causa por la que el uso de edulcorantes tanto naturales como sintéticos ha aumentado con el paso del tiempo (Méndez y Uribe, 2002).

Dicho lo anterior, el incremento en el consumo de edulcorantes hipocalóricos genera diversos riesgos para algunos sectores poblacionales. Algunos de estos tipos de riesgo son: (1) Reacciones alérgicas (por ejemplo, el asma) y (2) Fallo metabólico (Msagati,

2013). Un ejemplo de ello son los edulcorantes artificiales como el aspartame, el cual, según Msagati (2013) “es un dipéptido producto de la reacción del ácido L-aspartico y L-fenilalanina metil éster, los cuales son normalmente hidrolizados después de ser ingeridos para producir aspartil-fenilalanina y metanol”. Posteriormente, las enzimas producidas durante la digestión hidrolizan el aspartil-fenilalanina produciendo ácido aspártico y fenilalanina, que en la actualidad es un riesgo a la salud para pacientes que sufren una alteración genética en el gen homocigoto para fenilcetonuria (*PKU* en inglés). Aquellas personas que producen la enzima fenilalanina hidroxilasa (contrario a la alteración genética) tienen la capacidad de transformar a la fenilalanina en tirosina después de ser absorbida por el sistema digestivo, por lo que evita que la fenilalanina se acumule en su sangre (Msagati, 2013). Otros edulcorantes hipocalóricos como la sacarina han sido reportados como carcinogénicos en los humanos. Experimentos hechos con ratas macho han demostrado tener una elevada incidencia en cáncer de vejiga (Msagati, 2013). Por tanto, es posible plantear que algunos sectores poblacionales no pueden consumir este tipo de edulcorantes.

Por otra parte, la presente investigación se enfoca de mayor manera a la observación del posible daño tisular en diversas estructuras vitales para el organismo. Dentro de las patologías que se refieren a daños en tejido se encuentra la enfermedad del hígado graso no alcohólica (*NAFLD* en inglés). Esta enfermedad es una manifestación del síndrome metabólico y se relaciona con la observación de inflamación hepática, la cual es la enfermedad más común observada en niños y adultos con obesidad (Figlewicz y col., 2009). La fisiopatología de dicha enfermedad no ha sido totalmente comprendida, sin embargo, estudios recientes muestran la posible asociación entre el consumo de fructosa en alimentos y bebidas con el desarrollo de la enfermedad. Además, es fundamental investigar si el consumo moderado de fructosa y de edulcorantes hipocalóricos generan cambios metabólicos que influyan en el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, cambios estructurales o funcionales en hígado o tolerancia anormal a la glucosa (Figlewicz y col., 2009).

Se han enfocado recursos en la divulgación de los beneficios asociados con la ingesta de edulcorantes, tales como la reducción en la ingesta de calorías dentro de la dieta, reducción del riesgo de padecer diabetes tipo 2 y reducción en el riesgo de presentar desórdenes metabólicos. Con el paso del tiempo se ha observado que la ingesta de calorías y la masa corporal están asociados. Muchos de los estudios indican que el consumo de edulcorantes hipocalóricos pudiera ayudar a la disminución de la obesidad y/o de la diabetes tipo 2 aunque, a su vez, pudiera inducir el aumento de masa corporal en diferentes situaciones. Es por ello que, durante esta investigación, se consideraron parámetros relacionados con la masa corporal para evaluar algunas patologías observables (Mitsutomi y col., 2014). Es importante mencionar que, de igual manera, el enfoque de la investigación se centra en el análisis del tejido adiposo retroperitoneal con relación al comportamiento metabólico, con la masa corporal y con la existencia del daño que posiblemente provoquen los edulcorantes. Diversos estudios muestran que las ratas que beben soluciones de sacarina tienden a consumir una mayor cantidad de alimento induciendo mayor ganancia de masa corporal comparado con las ratas que beben soluciones de glucosa. Contrario a esto, los individuos que consumen estevia presentan una disminución significativa de glucosa postprandial comparado con los que consumen sacarosa (Mitsutomi y col., 2014). Aunado a esto, el tejido adiposo (pardo y blanco) es la principal fuente donde se lleva a cabo el metabolismo de lípidos, así como el sitio de producción y secreción de varias hormonas y citoquinas incluida la adipocitoquina leptina. Diversos estudios muestran que la leptina influye de manera importante con patologías como obesidad y con desórdenes metabólicos incluyendo la resistencia a la insulina (Mitsutomi y col., 2014).

De acuerdo con las problemáticas de salud que se han mencionado con anterioridad, se propone la evaluación de edulcorantes calóricos e hipocalóricos enfocado a la posible generación de daños a nivel celular y desórdenes en el comportamiento metabólico empleando modelos animales de laboratorio.

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo general**

Analizar el efecto a nivel celular y metabólico de la ingesta de edulcorantes calóricos (glucosa, fructosa y sacarosa) e hipocalóricos (acesulfame de K, aspartame, estevia, mezcla comercial de aspartame y acesulfame de potasio, sacarina y sucralosa) empleando estudios histológicos y bioquímicos de diferentes tejidos de 176 ratas hembra y macho de la cepa Wistar recién destetadas después de 120 días de experimentación.

### **1.2.2. Objetivos particulares**

- Evaluar los parámetros de necrosis a nivel miocardio y la presencia del compuesto de desgaste lipofuscina, en tejido cardiaco.
- Evaluar los parámetros de daño glomerular y degeneración celular tubular en tejido renal.
- Evaluar los parámetros de degeneración vacuolar tubular y fibrosis/inflamación en hígado.
- Evaluar la longitud mayor adipocitaria y la masa de tejido con respecto al tejido adiposo retroperitoneal.
- Observar la relación de la ingesta de edulcorantes con la ganancia de masa corporal de cada espécimen en estudio.
- Observar el comportamiento de algunos parámetros bioquímicos y algunas hormonas (péptido insulínico dependiente de glucosa, determinación de glucosa, determinación de triglicéridos, determinación de glucagón, colesterol total, insulina, grelina y leptina).
- Comparar las observaciones micrográficas de los diferentes tejidos estudiados con las pruebas histológicas y bioquímicas.

### **1.3. Hipótesis**

El consumo crónico de edulcorantes calóricos e hipocalóricos provoca daños histológicos en los tejidos cardíaco, hepático, renal y adiposo en ratas Wistar macho y hembra que bebieron agua con edulcorantes durante 120 días de experimentación después del destete.

## CAPÍTULO 2

### FUNDAMENTOS

#### 2.1. Aditivos alimentarios

Msagati (2013) menciona que “los alimentos son uno de los requerimientos básicos en la vida humana, los cuales se extraen generalmente de animales o plantas (y otras en menor cantidad provienen de otras fuentes, e.g., las setas, la espirulina y las algas). Generalmente, los alimentos para humanos no son consumidos en crudo y, por tanto, son procesados mediante tratamientos con o sin calor para darles una mayor palatabilidad. Los pasos que se siguen dentro de los tratamientos de los alimentos dependen de cada tipo de producto alimenticio que será preparado donde necesariamente algunos aditivos nutritivos esenciales para la salud son añadidos”. De igual forma, existen sustancias químicas que se utilizan en la industria de los alimentos. De acuerdo con Damodaran y col. (2008) muchas de estas sustancias “se añaden deliberadamente a los alimentos para mejorar sus propiedades funcionales, aunque con frecuencia dichas sustancias se encuentran también presentes de forma natural en algunos alimentos”. Si estas sustancias se añaden deliberadamente, se les denomina aditivos alimentarios.

Según el Codex Alimentarius (2016) “se entiende por aditivo alimentario cualquier sustancia que en cuanto tal no se consume normalmente como alimento, ni tampoco se usa como ingrediente básico en alimentos, tenga o no valor nutritivo y cuya adición intencionada al alimento con fines tecnológicos (incluidos los organolépticos) en sus fases de fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, resulte o pueda preverse razonablemente que resulte (directa o indirectamente) por sí o sus subproductos, en un componente del alimento o un elemento que afecte a sus características. Esta definición no incluye “contaminantes” o sustancias añadidas al alimento para mantener o mejorar las cualidades nutricionales”.

Es importante mencionar que, de acuerdo con Msagati (2013), “el proceso para añadir los aditivos a los alimentos involucra un proceso de mezclado de varios ingredientes antes o después del tratamiento con calor, generando una mejora en el flavor, en el sabor, la textura o la apariencia de los productos alimenticios”.

Damodaran y col. (2008) mencionan que “desde un punto de vista normativo, cada uno de los aditivos alimentarios deberá desempeñar alguna función o impartir un atributo útil y aceptable que justifique su uso. Es importante resaltar que el uso de aditivos para enmascarar daños o alteraciones de los alimentos engañando a los consumidores, está expresamente prohibido en las disposiciones legales que regulan el uso de los aditivos alimentarios. Muchos de los aditivos son sustancias naturales y, a menudo, se obtienen comercialmente de dichas fuentes”.

Qiu y Wang (2017) mencionan que “aunque los aditivos alimentarios tienen beneficios para la salud y son convenientes, los consumidores aún consideran que su aplicación es sospechosa e incluso los señalan como productos anti-naturales o riesgosos para la salud pública. Diversas investigaciones han estudiado el potencial de los efectos adversos en la salud y la seguridad de los consumidores. Mientras muchos de los aditivos alimentarios son seguros, estos pueden ser usados bajo cierta restricción para lograr un beneficio tecnológico y, en algunos casos, la cantidad utilizada de algunos aditivos alimentarios queda estrictamente controlada bajo regulaciones alimentarias”. Además, es importante mencionar que según Msagati (2013) “la tendencia de hacer alimentos más atractivos y con buena palatabilidad ha sido establecida mediante la forma de incorporar la variedad de los ingredientes o de acuerdo con los tratamientos especiales que se les dan a los productos alimenticios para impartir dicha calidad. Esta tendencia estipula el siguiente lema: ‘Las personas primero perciben con la nariz, después con los ojos y finalmente con la boca’; de acuerdo con lo antes mencionado, es importante resaltar que tanto el aroma, el *flavor* (ver Glosario), el sabor y la apariencia son de igual manera importantes en el atractivo de los alimentos”.

De igual forma, Msagati (2013) define a los aditivos alimentarios como “las sustancias que son incorporados a los productos comestibles para realizar roles y funciones específicas, tales como es la preservación de los productos alimenticios mediante el incremento de la vida de anaquel o inhibir el crecimiento de algunos microorganismos patógenos. Otra de las funciones de estos aditivos es la impartición de un color, olor o un *flavor* deseado para los productos alimenticios. Existen una gran cantidad de aditivos y de agentes preservantes comúnmente adicionados a los alimentos. Estos incluyen agentes antioxidantes, ácidos, reguladores de acidez y sales, emulsificantes, colorantes, estabilizadores, espesantes, gelificantes, edulcorantes y preservantes, así como minerales y vitaminas”. La diferencia de todos estos aditivos es que tienen diferente función en los alimentos dependiendo del propósito al que se quiere llegar. Por ejemplo, los emulsificantes tienden a darle a los alimentos una buena textura y, por tanto, dar la mejor homogeneidad que sea posible para mezclar sustancias inmiscibles tales como el agua con el aceite; en este caso se evita que exista alguna separación generando productos como la mayonesa y los helados. Los estabilizantes, agentes de viscosidad y agentes gelificantes brindan una textura fuerte y suave mediante el incremento de la viscosidad. Finalmente, los edulcorantes son de gran importancia para el *flavor*, aunque existen diferentes tipos de edulcorantes entre los cuales destacan los que tienen una importante función en dietas para consumidores con problemas de salud, como los casos de la diabetes o la hipertensión” según este autor (Msagati, 2013).

## **2.2. Dulzor**

De acuerdo con Jayasinghe y col. (2017) “el sabor o el gusto es la sensación que se experimenta cuando una sustancia en la boca es reconocida por los receptores del sabor en las papilas gustativas de la lengua. En ellas se perciben cuatro gustos básicos: dulce, salado, amargo y ácido, aunque recientemente, por la adición de sustancias químicas durante el procesamiento de los alimentos y, particularmente del monoglutamato de sodio, se ha acuñado un “quinto” sabor: *umami* (ver el Glosario). Dichas percepciones sensoriales generalmente influyen en el consumo de alimentos

(dulce, salado y *umami*) y también pueden desencadenar el rechazo de toxinas (amargo y ácido). Por tanto, es posible mencionar que estas percepciones sensoriales son indispensables para la dieta de los consumidores. Además, en las últimas décadas, dichas percepciones han tenido un incremento en el interés de comprender la relación que existe entre la percepción del gusto con la saciedad, el balance energético y con la salud a largo plazo” (Jayasinghe y col., 2017).

Desde la última década, los estudios enfocados a la relación entre los marcadores sensoriales y a las preferencias alimentarias han sido de interés debido al constante cambio en los avances científicos dentro del campo de la nutrición. Estos estudios se han centrado en identificar a los receptores y a otras moléculas involucradas en el mecanismo de transducción que generan la percepción y el sabor. Por tanto, los cambios relacionados con la edad y con la percepción de olores y sabores resulta muy intrigante. Se ha observado que la percepción de olores y sabores generan una preferencia o un rechazo hacia los alimentos. Es decir, la atracción de los alimentos dulces se debe a que el organismo requiere de energía. La atracción de alimentos salados se debe a que se requiere en el organismo de cloruro de sodio, etc. (Guido y col., 2016).

De igual forma, las sustancias dulces han sido un gran foco de atención especialmente a partir de la segunda mitad del siglo XX, debido al interés por encontrar opciones al azúcar, buscando sustitutos adecuados. Los dos primeros fueron las mieles fructosadas a partir de almidones y especialmente de los del maíz y la sacarina (Durán-de-Bazúa, 2017; Durán-Domínguez-de-Bazúa, 2012, 2013, 2014, Mendoza-Pérez y col., 2017).

De acuerdo con el estudio de Jayasinghe y col., en el 2017, “la relación entre la percepción del dulzor y la concentración de glucosa que se proporcionó a los jueces sensoriales depende total y absolutamente de la capacidad del individuo en detectar la percepción dulce de las soluciones que consumieron. Además, el estudio muestra que los jueces que perciben una sensación más dulce presentan un valor bajo de

energía como carbohidratos totales, almidón, fructosa y glucosa, así como un gusto menor en alimentos y bebidas dulces.”

Para Damodaran y col. (2008) “antes de que llegaran las teorías modernas sobre edulcorantes, era creencia popular deducir que el dulzor estaba asociado a grupos hidroxilo (-OH) ya que las moléculas de los glúcidos estaban en gran medida dominadas por este rasgo. Sin embargo, esta visión pronto fue objeto de crítica debido a que los distintos compuestos polihidroxilados diferían grandemente en dulzor, ya que muchos aminoácidos, algunas sales metálicas e incluso sustancias no relacionadas como el cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ) y la sacarina también son dulces. Con todo, era evidente que debía haber algunas características comunes entre las sustancias dulces y durante los últimos 75 años, la teoría que relacionaba la estructura molecular con el sabor dulce ha ido evolucionando hasta explicar satisfactoriamente por qué ciertos compuestos muestran sabor dulce”.

Damodaran y col. (2008) mencionan que “Shallenberger y Acree en el año de 1969 fueron los primeros en proponer la teoría AH/B de la unidad sávida (desencadenante de sabor) común a todas las sustancias que causan una sensación dulce”. En un principio se veía esta unidad sávida como la donación de un protón asociado a un H unido covalentemente y a un orbital electronegativo colocado a una distancia de unos  $3\text{Å}$  del protón. De este modo los átomos electronegativos vecinos de la molécula eran esenciales en el sabor dulce. Además, uno de los átomos debía poseer un protón vinculado a un anión. Los átomos de oxígeno, nitrógeno y cloro con frecuencia desempeñan este papel en compuestos dulces y los átomos de oxígeno del radical hidroxilo pueden servir tanto como AH ó como B en una molécula”.

En complemento con dicha teoría, el estudio de Fernstrom y col. (2012) menciona que la información relacionada con las percepciones de los edulcorantes es bien sabida, “sacarosa, sacarina, sucralosa, ciclamato, aspartame y taumatina son todos dulces para los humanos”; lo que se diferencia entre cada uno de ellos es el mecanismo de detección. Aquí cabe mencionar que casi todos ellos tienen un dejo generalmente amargo y que por ello se adiciona glucosa para enmascararlo -casi siempre ocultándola del consumidor con la palabra dextrosa- (Durán-de-Bazúa, 2012).

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, el sistema gustativo reconoce una o más diferentes percepciones: dulce, salado, amargo, ácido y, ahora con el monoglutamato de sodio, *umami*.

Durante este reconocimiento, el estímulo de detección ocurre en las células del gusto, agrupadas en pequeños conglomerados (brotes gustativos) los cuales se encuentran comúnmente en la superficie dorsal de la lengua y en el paladar. La activación de estas células provoca la liberación de neurotransmisores sobre el nervio craneal, induciendo que la información del sabor se dirija hacia el cerebro. Posteriormente, el cerebro procesa la información gustativa y, junto con otras percepciones sensoriales (olor, temperatura y textura), genera la percepción sensorial.

A partir de este momento, comienza el contexto emocional, es decir, experiencia, motivación, preferencia y valor hedónico, promoviendo la respuesta al consumo de los alimentos (Fernstrom y col., 2012). Los estudios que se han realizado enfocados a la relación entre la percepción del dulzor y su influencia en el consumo de bebidas y alimentos con edulcorantes calóricos e hipocalóricos han sido limitadas.

De acuerdo con Martínez y col. (2010) “los edulcorantes hipocalóricos, como el aspartame y la sucralosa, son comúnmente utilizados. Sin embargo, los efectos del consumo prolongado aún no han sido completamente establecidos”. Es por ello, que es pertinente realizar investigación enfocada a estos aditivos alimentarios, con la finalidad de obtener una mayor información al respecto.

## 2.3. Edulcorantes

La Real Academia Española (RAE) define a un edulcorante como cualquier sustancia que endulza o edulcora a los alimentos (RAE, 2018g). En comparación, la FAO menciona que son productos utilizados para endulzar, derivados de los cultivos de remolacha azucarera, caña de azúcar, cereales, frutas o leche, producidos por insectos o derivados del almidón. Se debe tener en cuenta que el edulcorante ideal debe poseer como características un alto grado edulcorante, con un sabor agradable y sin gusto amargo. Deben ser inodoros, incoloros y poseer una alta solubilidad, estabilidad y funcionalidad. Deben ser económicos, no tóxicos, no provocar caries dentales y ser metabolizados o excretados por el organismo de una manera normal (Alonso, 2010). De acuerdo con el Código Alimentario Español (2018), los edulcorantes artificiales son sustancias sápidas sintéticas que, sin tener cualidades nutritivas, poseen un poder edulcorante superior al azúcar de la caña de azúcar, de la remolacha o de cualquier hidrato de carbono al que traten de sustituir.

### 2.3.1. Clasificación de los edulcorantes

En cuanto a su clasificación global, ante la gran variedad de tipos existentes, los edulcorantes se pueden agrupar en función de su contenido calórico (calóricos o hipocalóricos), según su origen (natural o artificial) o incluso según su estructura química (García y col., 2013). Existen muchas sustancias con sabor dulce y, de acuerdo con Navarro (2012), una de las clasificaciones de los edulcorantes es:

- a) *Los glúcidos alimenticios*, de origen natural, con valor nutritivo y poder edulcorante inferior o vecino a la sacarosa. Incluyen la sacarosa, fructosa, glucosa, lactosa, etc.
- b) *Los edulcorantes intensos*, de origen sintético normalmente, sin valor nutritivo o valor nutritivo reducido y con un poder edulcorante superior a la sacarosa. Incluye 2 subgrupos de sustancias: 1) sustancias químicas sintéticas como la sacarina y sus sales, el ácido ciclámico, acesulfame, aspartame, sucralosa, entre otros. 2) sustancias de origen vegetal de naturaleza glicosídica (glicirrina, dihidrochalconas y esteviósidos) y de naturaleza proteica (taumatinas, monelina y miraculina).

- c) *Los polioloos, polialcoholes o glúcido-alcoholes*, de origen natural y/o semisintético, con valor nutritivo y bajo poder edulcorante, inferior a la sacarosa. Tienen efecto texturizante, confiriendo volumen o cuerpo a los alimentos. Incluyen el manitol, lactitol, isomaltitol, xilitol, sorbitol y maltitol.

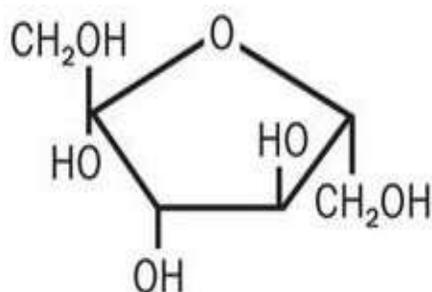
### **2.3.2. Edulcorantes calóricos**

El termino azúcares se ha usado tradicionalmente para designar los mono y disacáridos. En realidad este nombre es otro engaño a los consumidores promovido por los fabricantes de edulcorantes sintéticos con el soporte pasivo de Codex Alimentarius y la FAO, ya que deberían llamarse glúcidos precisamente para dejar claro que no es lo mismo azúcar que sus dos monómeros, fructosa y glucosa. Los glúcidos, por su sabor dulce, son utilizados como edulcorantes para dar palatabilidad a los alimentos y bebidas; para la conservación de alimentos ya que modifican la presión osmótica y provocan la muerte de los microorganismos potencialmente patógenos, así como para conferir ciertas características agradables a los alimentos y bebidas no alcohólicas (Izquierdo, 2013).

#### **2.3.2.1. Fructosa**

La fructosa es un glúcido simple presente en forma natural en frutas, verduras y miel. Actualmente, la mayor cantidad de fructosa consumida en la dieta de países desarrollados y en vías de desarrollo proviene de la adición de “jarabe de maíz” o “jarabe de maíz alto en fructosa” (*HFCS* del inglés *high fructose corn syrups*), que ya no puede considerarse un edulcorante natural sino totalmente sintético, que se encuentra en bebidas gaseosas, néctares, alimentos de bajo contenido calórico y alimentos libres de gluten.

La fructosa se absorbe más lentamente que la glucosa, aunque es captada y metabolizada de manera más rápida por el hígado (Riveros y col., 2014). Debe alertarse sobre el hecho de que el consumo de fructosa en cantidades elevadas puede causar no solamente malestar gastrointestinal, sino aumento en la generación de mediadores proinflamatorios, elevación de la tensión arterial, aumento de los triglicéridos y del ácido úrico, desarrollo de hiperinsulinemia con resistencia a la insulina a corto plazo y síndrome metabólico a mediano y largo plazo (Bray y col., 2004; Calzada y col., 2013; Gaby, 2005; Johnson y col., 2007; Jürgens y col., 2005; Malik y col., 2010; Teff y col., 2004). En la **Figura 1a** se muestra la estructura química de la fructosa.



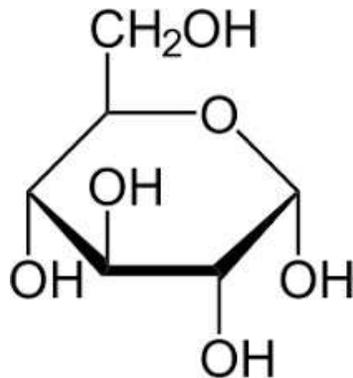
**Figura 1a.** Estructura química de la fructosa (Melo-Cuamatzi, 2007)

### 2.3.2.2. Glucosa

De acuerdo con Damodaran y col. (2008) “la D-Glucosa es un polialcohol y un aldehído. Se incluye dentro de las aldosas, una designación de los glúcidos que contienen un grupo aldehído. Los glúcidos se diferencian entre sí tanto desde el punto de vista de la calidad como de la intensidad del sabor dulce”.

La glucosa es la principal fuente de carbono y de energía para todas las células vivas; de igual forma, es el glúcido simple más abundante del planeta. Tanto en los organismos unicelulares como en los pluricelulares la cantidad de glucosa disponible puede variar considerablemente. Por tanto, es importante que los organismos vivos sean capaces de detectar la cantidad de glucosa disponible destinada para tejidos y órganos vitales ya que, de esta manera, se puede establecer su buen funcionamiento.

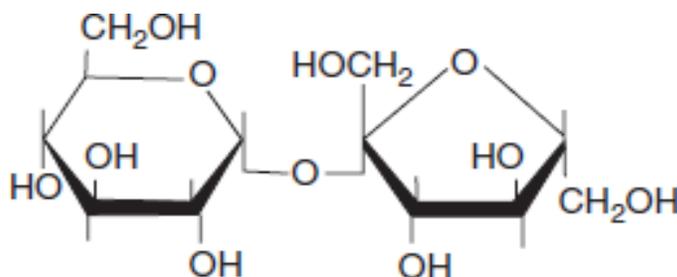
Es importante mencionar que la alteración en la expresión de los genes involucrados en la transportación de glucosa es uno de los mayores padecimientos que inducen el cambio en la concentración de glucosa en las células (Mobasheri y col., 2008). La glucosa (**Figura 1b**) es un sustrato muy importante para las células de los mamíferos ya, que provee una fuente de energía disponible que permite el óptimo funcionamiento en el metabolismo celular (Mobasheri y col., 2008).



**Figura 1b.** Estructura química de la glucosa (Melo-Cuamatzi, 2007)

### 2.3.2.3. Sacarosa

Es un dímero ( $\beta$ -D-fructofuranosil- $\alpha$ -D- glucopiranososa) formado por la glucosa y la fructosa, conocido comúnmente como “azúcar” y que se muestra en la **Figura 1c**.



**Figura 1c.** Estructura química de la sacarosa (Melo-Cuamatzi, 2007)

La sacarosa es el compuesto químico orgánico más abundante en el mundo. Su hidrólisis parcial se aprovecha comercialmente en la elaboración de azúcar invertido usado en bebidas (Baduí, 2006). Se obtiene industrialmente de la caña de azúcar y de la remolacha azucarera.

### **2.3.3. Edulcorantes hipocalóricos**

De acuerdo con Damodaran y col. (2008) “los edulcorantes hipocalóricos no poseen un valor nutritivo y son “acalóricos” (algo imposible ya que si se introducen a un calorímetro muy probablemente darán el contenido de energía que liberan al quemarse). Comprenden un amplio grupo de sustancias que producen sabor dulce o mejoran o potencian la percepción de los sabores dulces”.

“La prohibición del uso de ciclamatos en los EE.UU., junto con las dudas surgidas sobre la inocuidad de la sacarina, ha estimulado la investigación de edulcorantes alternativos que satisfagan la actual demanda de bebidas y alimentos con edulcorantes hipocalóricos (Damodaran y col., 2008)”.

“Esto ha inducido el descubrimiento de muchas nuevas moléculas, de forma que el número de edulcorantes hipocalóricos potencialmente viables para uso comercial está creciendo (Damodaran y col., 2008)”.

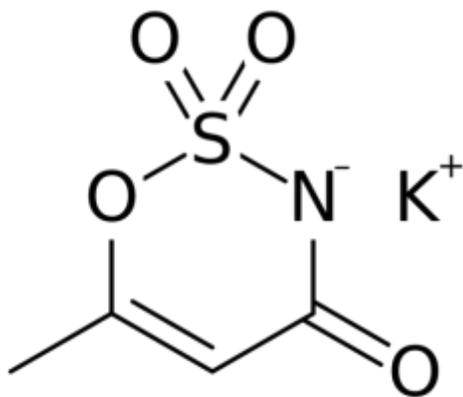
#### **2.3.3.1. Acesulfame de potasio**

De acuerdo con Damodaran y col. (2008) “los edulcorantes sulfoamidas son sustancias que estructuralmente están relacionados con el grupo del ácido sulfámico (IX). Dentro de este grupo se encuentra el acesulfame de potasio. El 6-Metil-1,2,3. Oxatiacina-4(3H)-ona-2,2-dióxido (Acesulfame de K) fue descubierto en Alemania y fue primero aprobado como edulcorante no nutritivo en EE.UU. en 1988. El nombre químico de esta sustancia ha llevado a la utilización del nombre comercial, acesulfame K, basado en sus relaciones estructurales con el ácido acetoacético y el ácido sulfámico y a su sal de potasio natural”. El acesulfame de potasio es uno de los principales edulcorantes bajos en calorías que se encuentran en la dieta humana. En la actualidad existen

estudios que consideran al acesulfame de potasio como inadecuado y, además, se ha demostrado que este edulcorante tiene propiedades genotóxicas y tiene la capacidad de inhibir la biodegradación de la glucosa dentro de la microbiota intestinal. De igual forma, se le ha asociado con otros edulcorantes sulfoamidas como la sacarina y el ciclamato por su actividad antimicrobiana (Bian y col., 2017).

Por otra parte, el acesulfame de potasio presenta un dulzor intermedio entre el ciclamato y la sacarina generando un sabor metálico y amargo que se aprecia a medida que se aumenta su concentración. La intensificación de este sabor es especialmente útil cuando se mezcla con otros edulcorantes bajos en calorías, ejemplo de ello es el aspartame (Damodaran y col., 2008).

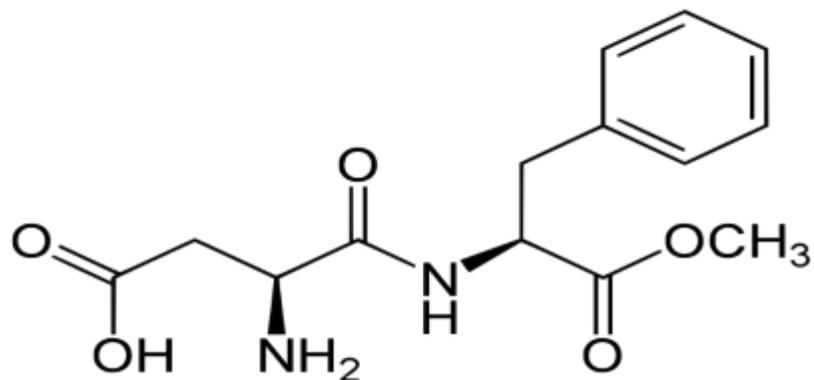
Según Damodaran y col. (2008) “el acesulfame de potasio es excepcionalmente estable a temperaturas elevadas, encontrándose en productos horneados y también es estable en productos ácidos tales como bebidas no alcohólicas carbonatadas. El acesulfame de K no se metaboliza en el organismo (**Figura 2a**), de ahí que no proporcione calorías y se excreta por los riñones”. Es importante mencionar todo esto es debatible a la luz de muchos artículos científicos tanto de hace unos años como recientes que indican que sí se metaboliza y que sí causa problemas a los organismos que lo consumen.



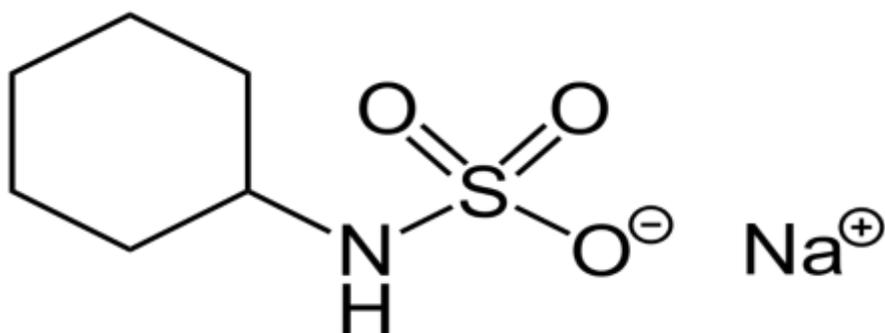
**Figura 2a.** Acesulfame de potasio (Sánchez, 2014).

### 2.3.3.2. Aspartame

Tal y como mencionan Damodaran y col. (2008) “los edulcorantes peptídicos han emergido como respuesta a la demanda hacia ingredientes edulcorantes para alimentos y bebidas con menor contenido calórico (**Figuras 2b,c**).



**Figura 2b.** Aspartame (Sánchez, 2014)



**Figura 2c.** Ciclamato de sodio (Sánchez, 2014)

Aunque los aminoácidos de los edulcorantes peptídicos producen calorías durante el proceso de digestión, su intenso poder edulcorante le permite ejercer su funcionalidad a muy bajas concentraciones con lo que las calorías que producen son insignificantes. El aspartame o el éster metílico de la L-Aspartil-L-Fenilalanina tiene un poder edulcorante de 180 a 200 veces más dulce que la sacarosa. Fue aprobado por primera vez en EE.UU. en 1981 y ahora actualmente está permitido su uso en más de 75

países en donde se utiliza en numerosos productos. Se considera que proporciona un sabor dulce limpio, aunque le faltan algunas de las cualidades edulcorantes de la sacarosa”. Es importante mencionar que dicho edulcorante presenta dos desventajas. Una es su inestabilidad en condiciones ácidas y su rápida degradación cuando se expone a temperaturas elevadas. Bajo condiciones ácidas tales como bebidas no alcohólicas carbonatadas, la velocidad de pérdida de su capacidad edulcorante es gradual y depende de la temperatura y del pH. La naturaleza peptídica del aspartame lo hace susceptible a la hidrólisis, siendo también susceptible de otras interacciones químicas y degradaciones microbianas. De manera similar, los valores de pH alcalinos favorecen las reacciones amino-carbonilo reaccionando fácilmente con la glucosa y la vainillina (Damodaran y col., 2008).

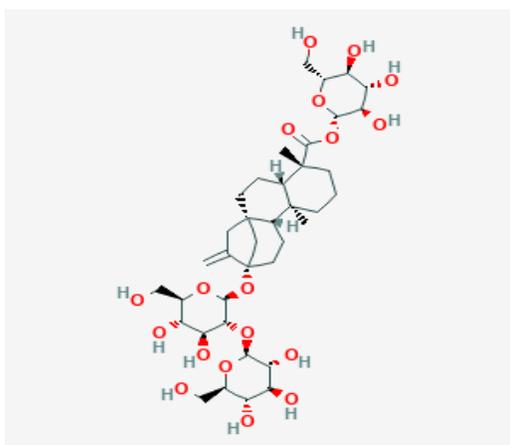
Por otra parte, en las referencias antes citadas se mencionó que diversos estudios muestran que el consumo crónico de edulcorantes puede provocar alteraciones en el metabolismo. En la publicación de Palmnäs y col., en el 2014, se menciona de manera similar estos padecimientos observables y, además, se hace énfasis en el consumo del aspartame. Palmnäs y col. (2014) mencionan que el consumo diario de refrescos de dieta (principalmente endulzados con aspartame) inducen un incremento en el riesgo de padecer diabetes tipo 2 y síndrome metabólico en un 67 y 36%, respectivamente.

Además, las evidencias emergentes sobre el microbioma intestinal postulan que las enfermedades metabólicas como la diabetes tipo 2, están asociadas con el perfil de la microbiota intestinal provocando su alteración (Palmnäs y col., 2014). Finalmente, de acuerdo con Damodaran y col. (2008) “se ha señalado por algunos la preocupación sobre los potenciales efectos toxicológicos a largo plazo del metanol que se libera vía la hidrólisis del metil éster. Este problema sobre la salud está relacionado con la potencial conversión metabólica del metanol a formaldehído. Sin embargo, el considerable metanol que se libera a partir de los polímeros pectínicos de los alimentos a base de vegetales también es consumido sin que plantee aparentes efectos tóxicos.

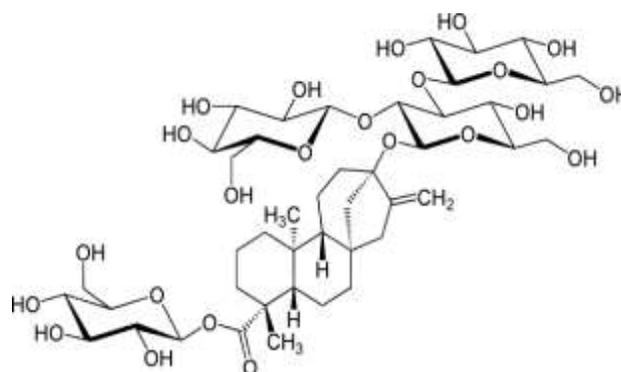
De forma similar, el consumo de aspartame por la población normal no está asociado con efectos adversos para su salud”.

### 2.3.3.3. *Stevia rebaudiana* - estevia

Su aislamiento se produjo en 1931 por Bridel y Leveillea partir de la planta sudamericana autóctona de Paraguay la *Stevia rebaudiana* (Navarro, 2012). Aunque la palabra “estevia” hace referencia a toda la planta, solamente algunos de los componentes de la hoja de estevia son dulces. Estos se conocen como glucósidos de esteviol. Existen varios tipos, si bien los más abundantes son el esteviósido y el rebaudiósido A (**Figura 2d**).



(i) Esteviósido de *Stevia rebaudiana*  
Bertoni (Sánchez, 2014)



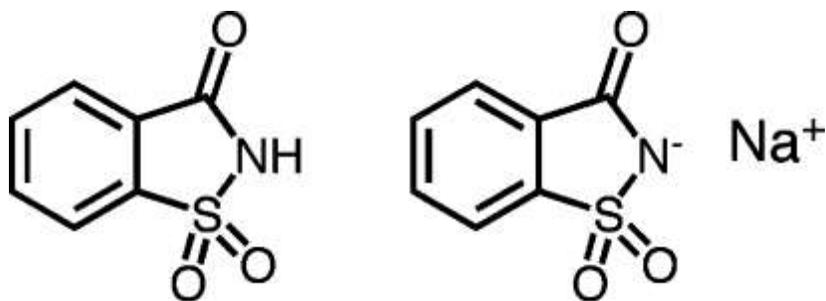
(ii) Rebaudiósido A de *Stevia rebaudiana*  
Bertoni (Sánchez, 2014)

**Figura 2d.** Glucósidos de *Stevia rebaudiana* Bertoni

El esteviosido es el glucósido de esteviol más abundante de la hoja y el rebaudiósido A el de mejor sabor; dichos edulcorantes son hasta 480 veces más dulces que la sacarosa. Actualmente, hay muchos investigadores estudiando estos compuestos para evaluar su inocuidad (García y col., 2013; Martínez-Calleja, 2017).

#### 2.3.3.4. Sacarina

Es uno de los edulcorantes más empleados, se obtiene a partir de la o-toluensulfonamida o de los anhídridos ftálico y antranílico; tiene un dulzor de 300 a 400 veces al de la sacarosa, con el inconveniente que provoca un resabio amargo metálico, sobre todo en altas concentraciones (**Figura 2e**).

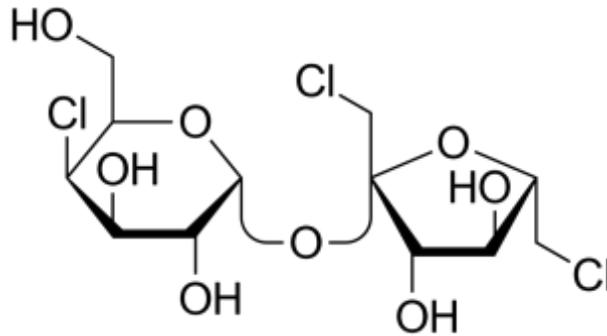


**Figura 2e.** Sacarina (Sánchez, 2014)

Tiene la denominación química de 3-oxo-2,3-dihidrobenzo (d) isotiazol-1,1-dioxido y la fórmula empírica  $C_7H_5NO_3S$ . Es un polvo blanco, cristalino anhidro, no higroscópico poco hidrosoluble (Baduí, 2006; Navarro, 2012). Fue prohibido en los EE.UU. cuando se detectaron problemas de salud severos en los consumidores. Sin embargo, actualmente es nuevamente permitido su uso ¿Por qué? Una pregunta de investigación interesante sobre los intereses creados sobre el derecho inalienable a la salud de los seres humanos (Durán-Domínguez-de-Bazúa, 2016).

#### 2.3.3.5. Sucralosa

De acuerdo con Damodaran y col. (2008) “los clorosacáridos se sintetizan combinando la cloración selectiva de moléculas de azúcar con otras estrategias sintéticas, tales como las condensaciones directas, para producir moléculas que poseen intenso dulzor. El clorosacárido, sucralosa (1,6-Dicloro-1,6-Dideoxi- $\beta$ -Fructofuranosil-4-Cloro- $\alpha$ -D-Galactopiranosido) fue aprobado en EE.UU. en 1998 y en 1999 se generalizó su uso, estando además aprobado en más de 40 países” (**Figura 2f**).



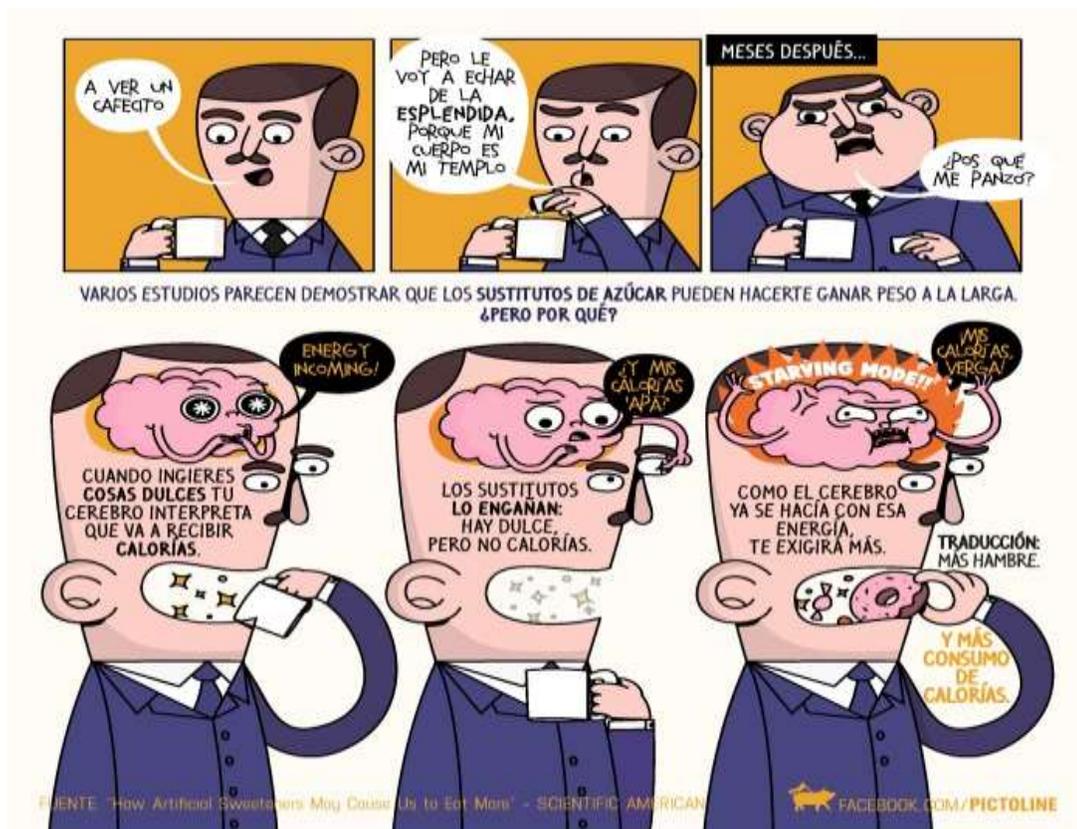
**Figura 2f.** Sucralosa (Sánchez, 2014)

Se han realizado diversos estudios en relación con el consumo de sucralosa y su efecto en el consumo de alimento. Uno de ellos es el de Wang y col., en el 2016. Wang y col. (2016) realizaron su investigación con la finalidad de observar el impacto de los edulcorantes con la homeostasis energética y el mecanismo potencial que genera los efectos observables. En dicho estudio se utilizó una dieta control (sacarosa y levadura); de igual forma, a los animales se les suministró sucralosa y se observó que durante los primeros cuatro días el consumo del alimento no fue diferente con respecto a la dieta control, sin embargo, pasado el tiempo de cinco días o más se observó que los animales aumentaban el consumo del alimento con respecto a la dieta control para ambos sexos. Es importante mencionar que durante esta investigación se observó que el incremento en el apetito fue reversible ya que se les suministró nuevamente la dieta control y la estabilización en los niveles de consumo ocurrió después de tres días. Wang y col. (2016) mencionan que la sucralosa puede incrementar el apetito a través del mecanismo directo gusto-dependiente o indirectamente gusto-independiente; esto a partir de la manipulación genética de las neuronas involucradas en el gusto dulce (Wang y col., 2016). Este fenómeno también fue observado por Martínez y col. (2010).

Por otra parte, de acuerdo con Damodaran y col. (2008), “la sucralosa muestra un perfil de intensidad-duración del dulzor similar al de la sacarosa y sin regustos amargos ni ningún otro sabor desagradable después de su consumo. La sucralosa exhibe un elevado grado de cristalinidad, alta solubilidad en agua y presenta una muy buena estabilidad a altas temperaturas. También es bastante estable al pH de las bebidas no alcohólicas carbonatadas y únicamente se produce una limitada hidrólisis hasta unidades de monosacáridos durante el almacenamiento usual de estas bebidas”.

Además, según Damodaran y col. (2008) “las características moleculares de la sucralosa que no son fácilmente reconocibles por las enzimas hidrolíticas constitutivas hacen que sean resistentes a los procesos digestivos y metabólicos”. Con este aserto habría que preguntarse cómo se obtuvieron resultados desastrosos desde el punto de vista digestivo y metabólico en experimentos con seres vivos (Dyer y col. 2007; Hur y Lee, 2015; Mace y col., 2007; Navarro-del-Cabo, 2016; Schiffman y Rother, 2013; Simon y col., 2013; Soffritti y col., 2016; Suez y col., 2014, 2015; Wang y col., 2016). De igual forma, se han realizado diversos estudios que muestran a la sucralosa como un producto seguro dentro de los niveles de utilización, aunque existen discrepancias ya que se menciona que este edulcorante puede generar compuestos peligrosos al exponerse en condiciones de degradación térmica (Damodaran y col., 2008).

Para terminar esta sección sobre los edulcorantes artificiales, se invita a los lectores a ver la **Figura 3** para comprender el sesgo de algunos autores.



**Figura 3.** Caricatura en Scientific American sobre los resultados del grupo de Wang y colaboradores (2016) relacionados con el neuropéptido “Y” y la respuesta neurológica al ayuno (Stetka, 2016)

## 2.4. Histología

De acuerdo con Banks (1993) “el término histología, derivado del griego *histos* (tejidos) y *logos* (estudio) significa el estudio de los tejidos. Para entender los tejidos es esencial la comprensión de la estructura y la función de los órganos. Justo como el organismo es la suma de todos sus órganos, entonces es posible decir que los órganos son la suma de los tejidos. Las sustancias celulares y extracelulares son la consecuencia de su composición bioquímica. Un enfoque lógico para la histología en un principio es la bioquímica, siguiendo con las células, continuando con los tejidos y culmina con el estudio de los órganos”.

Según Banks (1993) “un tejido es un grupo de similar, de idénticas o diferentes células y sus productos extracelulares que realizan una función específica o un espectro de funciones relacionadas. Los tejidos básicos son el epitelio, tejido conectivo, tejido muscular, tejido nervioso y tejido adiposo; por tanto, dichos tejidos están formados mediante bloques complejamente organizados jerárquicamente. El progreso tecnológico en varias disciplinas científicas ofrece a los histólogos diversas maneras de estudiar las células y los tejidos. Hasta ahora, la cultura celular ha permitido la observación directa de células vivas. Esto es rutina porque se utilizan antibióticos, además, la cultura celular permite la observación continua, la manipulación y las pruebas de células explantadas sin riesgo del donante. Por tanto, esto facilita el estudio de la diferenciación celular, la transformación de las células, citogenética, metabolismo celular, interacciones célula- célula, relación huésped-parásito entre otros procesos biológicos”.

Durante esta investigación se utilizó la metodología de tinción con hematoxilina-eosina. El citoplasma normal, teñido con estos colorantes aparece rosa claro con un tono azul débil; el tono azul (basofilia) se debe principalmente a la presencia de ARN ribosómico. En caso de daño subletal, disminuye el número de ribosomas y se pierde el tono citoplasmático azul normal. La tumefacción del retículo endoplásmico y las mitocondrias contribuyen a una mayor palidez citoplasmática (tumefacción turbia). Al aumentar la tumefacción de los organelos, la célula experimenta inundación y aparecen vacuolas en el citoplasma que ahora se tiñe débilmente y pierde toda su basofilia (degeneración hidrópica) (Stevens y col., 2003).

## 2.5. Cambios celulares

De acuerdo con Stevens y col. (2003) “el cambio constante del ambiente exige un grado considerable de adaptabilidad celular. La mayoría de estas adaptaciones se producen a nivel bioquímico y representan la regulación final de una función metabólica. Sin embargo, muchas adaptaciones se acompañan además de cambios estructurales visibles al microscopio. Muchos de esos cambios estructurales entran en el patrón de crecimiento normal de un tejido; en contraste, ciertos cambios se sitúan fuera del rango fisiológico normal, produciendo un daño celular y/o alteración del funcionamiento adecuado de las células: A estos estímulos se les denominan patológicos”.

Desde el punto de vista celular, cuando una célula es expuesta a un estímulo perjudicial, se genera una respuesta que induce la desactivación de la mayoría de los genes y solamente se expresan aquellos que pueden proteger al organismo con efectos citoprotectores. El destino de una célula expuesta a dicho estímulo depende de la localización de los daños; este puede ser en sistemas subcelulares o pueden afectar a toda la célula en conjunto (Stevens y col., 2003). Es importante mencionar que si existe un ligero daño en los componentes celulares (incluyendo el suministro de energía) la célula desarrollará cambios morfológicos. A esto se le conoce como generación celular (Stevens y col., 2003).

Según Stevens y col. (2003) “los cambios estructurales más comunes son la tumefacción turbia, la degeneración hidrópica (por ejemplo, en riñones) y el cambio graso (por ejemplo, en hígado). Tiene importancia el hecho de que tales cambios morfológicos sean reversibles si el estímulo causal desaparece o disminuye. Bajo tales circunstancias, una célula puede volver a la normalidad después de eliminar los organelos dañados a través de autofagia y síntesis de nuevas proteínas”. De igual forma, las causas más comunes del cambio graso son toxinas, hipoxia crónica, *diabetes mellitus* y obesidad. Además, se sabe que el metabolismo alterado de los ácidos grasos conduce a la acumulación de triglicéridos que forman en las células, vacuolas no delimitadas por membranas, las cuales pueden desplazar el núcleo de su localización habitual (Stevens y col., 2003) tal como sucede en los adipocitos.

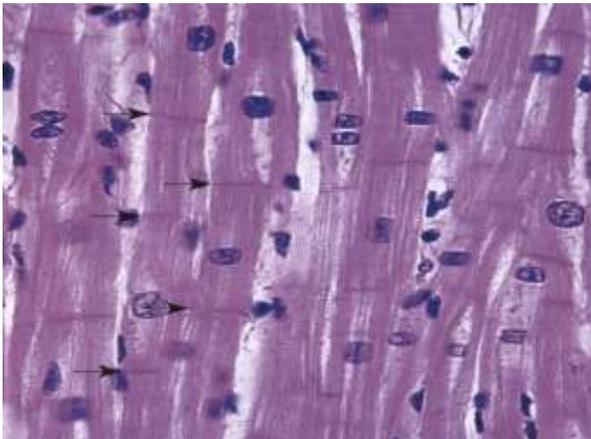
## 2.6. Tejidos analizados

### 2.6.1. Corazón

Es una bomba muscular que mantiene el flujo unidireccional de la sangre. Consta de cuatro cavidades: dos ventrículos y dos aurículas. Además, está constituido por tres capas: endocardio, miocardio y pericardio (Cónsole y Vidal, 2017; Ross y Pawlina, 2008):

- El endocardio está constituido por endotelio y un tejido conectivo subendotelial por donde transcurre el sistema cardionector.
- El miocardio es tejido muscular estriado con cardiomiocitos.
- El pericardio tiene 2 hojas: visceral o epicardio y parietal constituidas por tejido conectivo y mesotelio.

En la **Figura 4** se muestra una micrografía representativa del músculo cardiaco.



**Figura 4.** Micrografía del músculo cardiaco (Ross y Pawlina, 2008)

### 2.6.2. Hígado

El hígado es la central metabólica del cuerpo; su función es mantener los niveles apropiados de nutrientes en la sangre para ser utilizados por el cerebro, músculos y otros tejidos periféricos. Su misión es tan importante, que todos los nutrientes absorbidos por el intestino excepto los ácidos grasos son vertidos directamente a la vena porta, la cual drena en este órgano (Vázquez-Contreras, 2003).

Uno de los cambios morfológicos observados en el hígado es el cambio graso, el cual según Stevens y col. (2003) es una “manifestación de desestructuración metabólica subletal observada en ciertos tipos celulares con alta demanda de energía. La alteración resulta más frecuente en el hígado, pero también ocurre en el miocardio y en los riñones. Siguiendo este contexto, para el caso del tejido adiposo retroperitoneal, es importante resaltar que el hecho de haber mayor cantidad de tejido no es un indicador de que hay mayor proporción de masa, ya que la pérdida de masa disminuye su tamaño más no la cantidad”.

De acuerdo con la definición de Bacha y Bacha (2012) “el hígado es una glándula grande y lobulada; cada uno de los lóbulos está cubierto por una membrana llamada mesotelio debajo del cual hay una capa delgada del tejido conectivo llamada la cápsula de Glisson.”

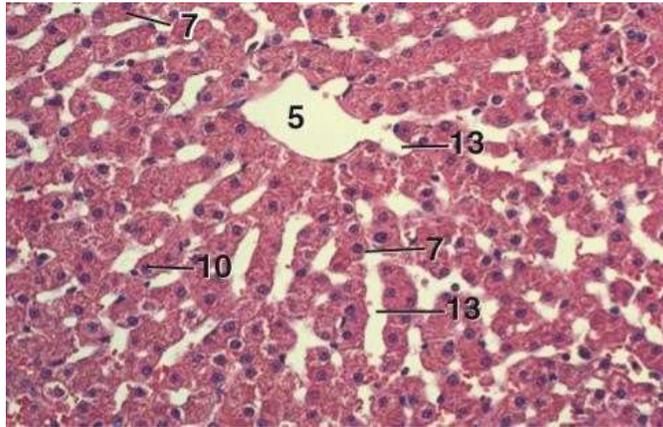
Además, el hígado cumple con las siguientes características: (Departamento de Biología Celular y Tisular, 2012). La mayoría de sus elementos son células parenquimatosas (hepatocitos) los cuales convierten gran parte del material nutritivo que se lleva al hígado en productos de almacenamiento como el glucógeno:

1. Gracias a la arteria hepática derecha e izquierda (25%) el hígado recibe sangre oxigenada. De igual forma, la vena porta contribuye con el 75% de sangre oxigenada y, además, establece la comunicación con la circulación general (esofágicas rectales y peritoneales) (Red de Salud de Cuba, s.f.)
2. A través de los conductos hepáticos se produce la bilis la cual se dirige a la vesícula biliar para su concentración.

Es importante mencionar que, de acuerdo con Bacha y Bacha (2012), “los tractos porta (áreas) ocurren en los intersticios de tres o más lóbulos. Cada tracto contiene una o más ramas de la vena porta, arteria hepática, vesícula biliar y vaso linfático, Estos componentes diversos están soportados por el tejido conectivo”.

Finalmente, en la **Figura 5** se observa la micrografía de una sección del hígado de un

gato a un aumento de 125x.



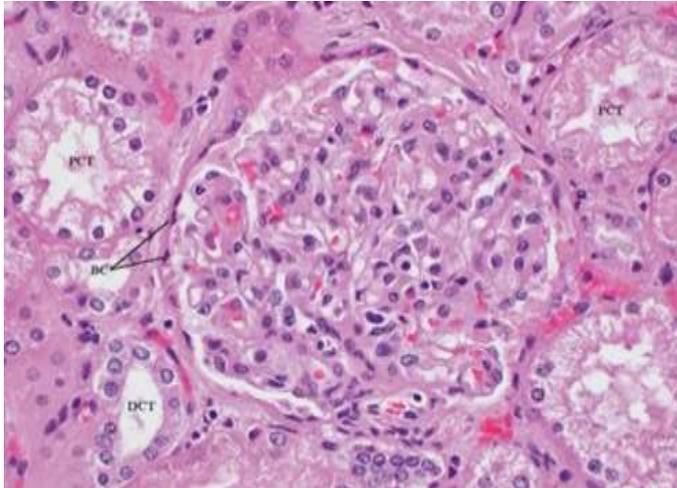
**Figura 5.** Micrografía de hígado: (5) Vena central, (7) Hepatocitos, (10) Núcleo de los hepatocitos, (13) Sinusoides hepáticos (Bacha y Bacha, 2012)

### 2.6.3. Riñones

Los dos riñones están altamente vascularizados, compuestos por glándulas tubulares las cuales tienen la función de mantener la composición de los fluidos del cuerpo a un nivel constante y de eliminar los desechos excretorios. Cada riñón se encuentra rodeado por una cápsula de tejido conectivo, la cual puede contener una distinta capa de músculo liso en su porción más profunda (Bacha y Bacha, 2012).

De acuerdo con Hansel y col. (2016) “en estado fresco, la corteza del riñón tiene una apariencia de color rojo pardo, es un color indicativo de que el flujo de la sangre está pasando a través de las conexiones vasculares complejas. Cada minuto, los riñones reciben aproximadamente el 20% de la salida cardíaca, con un 90% directamente a la corteza y el 10% a la médula. El corpúsculo renal representa la porción inicial dilatada de las nefronas. Además, este es un conjunto de capilares glomerulares rodeado por capas viscerales y parietales a lo que se le conoce como la cápsula de Bowman”.

En la **Figura 6** se muestra una micrografía de luz del corpúsculo renal donde se puede observar la capa parietal de Bowman (*BC*) rodeado por túbulos contorneados proximales (*PCT*) y túbulos contorneados distales (*DCT*).



**Figura 6.** Micrografía del corpúsculo renal (Hansel y col., 2016)

De acuerdo con Stevens y col. (2003), en relación con los cambios morfológicos en los riñones “la primera evidencia microscópica de lesión celular es la pérdida de la intensidad tintorial normal del citoplasma debido a la tumefacción de los organelos unidos a las membranas”.

#### **2.6.4. Tejido adiposo retroperitoneal**

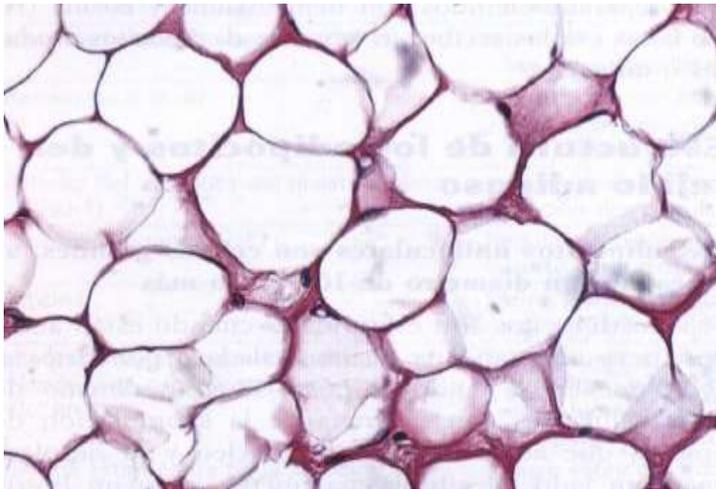
El tejido adiposo es un tejido conjuntivo especializado que cumple una función importante en la homeostasis energética. En todo el tejido conjuntivo laxo aparecen células adiposas (adipocitos) individuales o reunidas en grupos. Para su supervivencia, el organismo necesita asegurar que el aporte de energía sea constante a pesar de que la disponibilidad de sustancias nutritivas desde el medio externo sea variable. La capacidad corporal de almacenar carbohidratos y proteínas es limitada por lo que las reservas de energía se almacenan dentro de las gotitas de los lípidos de los adipocitos en forma de triacilgliceroles (Ross y Pawlina, 2008).

De acuerdo con Cónsole y Vidal. (2017), el tejido adiposo presenta 2 variedades:

- Tejido adiposo unilocular (grasa blanca o amarilla): Este tejido almacena energía, es termogénico, amortigua los golpes y secreta hormonas. Sus adipocitos son células con una inclusión lipídica voluminosa que empuja núcleo y citoplasma hacia la periferia. Los adipocitos uniloculares secretan leptina.

- Tejido adiposo multilocular (grasa parda): El color pardo es debido a la presencia de citocromos, es amortiguador de traumas y termogénico mediante la actividad de la noradrenalina. Los adipocitos multiloculares derivan del mesénquima, son más pequeños que los uniloculares y su núcleo suele ser excéntrico. Presentan inclusiones lipídicas de diferentes tamaños y numerosas mitocondrias.

Finalmente, en la **Figura 7** se aprecia una micrografía de tejido adiposo unilocular.



**Figura 7.** Micrografía de tejido adiposo unilocular (Ross y Pawlina, 2008)

## 2.7. Hormonas analizadas

### 2.7.1. Glucagón

De acuerdo con Brandan y col. (2006) el glucagón “es un péptido de 29 aminoácidos (28 según Morgado y col., 2008), sintetizado y segregado o secretado por las células  $\alpha$  del páncreas endocrino. La estructura es idéntica en todos los mamíferos y ha conservado un alto grado de analogía a lo largo de la evolución”. El glucagón aumenta durante el ayuno y el ejercicio, provocando una caída de la glucemia; cuando esto sucede, el aumento de glucagón va asociado siempre a una disminución de la insulina. Contrario a esto, cuando la glucemia aumenta, la secreción de glucagón se suprime. Es importante mencionar que dicha hormona desempeña un papel importante como proveedor de combustible al sistema nervioso central en el periodo de ayuno. Las

acciones del glucagón tienen lugar fundamentalmente en el hígado y el resultado final es la liberación de glucosa al torrente sanguíneo (Brandan y col., 2006).

### **2.7.2. Grelina**

Es una hormona gastrointestinal identificada como un potente regulador de la alimentación y control de la masa corporal. La secreción de esta hormona es prominente antes de la hora de comida y decrece después de la ingesta. Esto ocurre en individuos que cuentan con horarios regulares de alimentación.

Es importante mencionar que la grelina es un péptido residual formado por aminoácidos, producido principalmente en el estómago por las células del *fundus* (Frühbeck y col., 2004; Gnanapavan y col., 2002), aunque también hay secreción desde intestino, páncreas, riñones, pulmón, placenta, testículos, pituitaria e hipotálamo (Morgado y col., 2008).

### **2.7.3. Insulina**

Es una hormona polipeptídica que es secretada por las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos. En mamíferos se libera bajo la influencia de varios estímulos, entre ellos, el consumo de proteínas y de glucosa. Algunos carbohidratos se metabolizan y aumentan los niveles de glucosa en el plasma sanguíneo, provocando la estimulación inmediata de insulina en la circulación portal e induciendo su liberación. Esta hormona actúa en las células diana principalmente en el hígado, en los músculos y en el tejido adiposo, iniciando una transducción de señales (Heredia y col., 2015).

De acuerdo con Jagua y col. (2008) “la insulina es una hormona con efectos sobre el metabolismo y crecimiento normal de muchas células del cuerpo. En las últimas décadas se han descubierto, además, sus efectos sobre funciones del sistema nervioso central: modulación del ciclo apetito-saciedad, función reproductiva, liberación de neurotransmisores, supervivencia neuronal y plasticidad sináptica. Las

evidencias obtenidas desde modelos animales y hallazgos neuropatológicos han permitido entender parte de los mecanismos que asocian a la señal de la insulina con enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer”.

#### **2.7.4. Leptina**

Es una de las adipocinas sintetizada y secretada casi exclusivamente por el tejido adiposo y la cantidad liberada es directamente proporcional a la masa de tejido adiposo. Regula la liberación del glicerol en los adipocitos (Cónsole-Vidal., 2017). Es un péptido que circula en la sangre, actúa en el sistema nervioso central, regulando parte de la conducta alimenticia y el balance de energía. La proteína madura comprende una secuencia de 167 aminoácidos, tiene una masa molecular de 16 kD y presenta una estructura terciaria similar a la de las citosinas clásicas de hélice larga. La leptina humana tiene una homología de aproximadamente 84% con la de ratón y 83% con la de rata (Almanza y col., 2008).

#### **2.7.5. Péptido insulínotropo dependiente de glucosa (*GIP* en inglés)**

Fue descubierto en 1973 por su capacidad de inhibir la secreción de ácido en bolsas gástricas con pérdida en la tensión nerviosa por lo que se le denominó polipéptido inhibidor gástrico (*GIP*, en inglés). El efecto fisiológico más relevante es la regulación de la homeostasis de la glucosa posterior a la ingesta de alimentos. Esto ocurre a través de la estimulación en la secreción de insulina y en diversas acciones extrapancreáticas. Además, diversos estudios muestran que participa en la generación de la obesidad y en la resistencia a la insulina inducida por dietas con alto contenido de grasas en algunos tipos de ratones (Romero, 2007).

De igual forma, dicha hormona es secretada por células enteroendocrinas específicas y por células K localizadas principalmente en el duodeno a lo largo de toda la mucosa del intestino delgado. Su secreción es estimulada por la ingestión de alimentos ricos

en carbohidratos y grasas que producen un incremento de 10 a 20 veces en su concentración plasmática (Romero, 2007).

## **2.8. Determinaciones realizadas**

### **2.8.1. Colesterol total**

Según Baduí (2006) “el colesterol es el más abundante de los esteroides del tejido animal (representa el 95%). Está presente como integrante de las membranas celulares y es de vital importancia para el hombre en la síntesis de un gran número de hormonas, así como de la vitamina D y de las sales biliares. Hay que observar que del colesterol que se encuentra en la sangre del humano (150 a 250 mg por 100 mL), sólo aproximadamente el 35% proviene de la dieta y el resto es sintetizado en el hígado según la ruta del ácido mevalónico, en una proporción de más de un gramo por día.”

Existe evidencia en que el incremento en los niveles de colesterol y de lipoproteínas en sangre se asocia con la progresión en la enfermedad de esclerosis múltiple y otras enfermedades neurodegenerativas.

Dicha asociación puede estar regulada por la vía de oxisteroides (óxidos de colesterol) y secosteroides. Los oxisteroides son productos enzimáticos y de auto-oxidación del colesterol, los cuales, en algunos grupos funcionales contienen uno o más átomos de oxígeno, por ejemplo, en los grupos hidroxilo, ceto, hidroperóxidos y epoxi; los átomos pueden dirigirse a diferentes posiciones del anillo molecular o en las cadenas laterales. Los secosteroides están compuestos por un anillo de esteroide con una ruptura en el enlace entre el C9 y el C10. La vitamina D y sus metabolitos son el prototipo endógeno de los secosteroides. Ambos son fundamentales en la regulación de la homeostasis del colesterol en la periferia del cerebro (Narayanaswamy y col., 2015).

### **2.8.2. Glucosa sérica**

El contenido de glucosa, tanto en las células como en el organismo depende de su ingreso, síntesis y consumo. La mayoría de los organismos utilizan la glucosa como principal fuente de energía para realizar sus procesos, además, el contenido de esta molécula dentro del organismo debe permanecer estable. Durante el ayuno, el hígado mantiene los niveles de glucosa en sangre por el rompimiento de sus reservas de glucógeno. Si el ayuno es prolongado, es capaz de liberar glucosa por la gluconeogénesis, lo cual permite el abastecimiento de energía al resto del organismo (Osorio y Salceda, 2012).

La diabetes tipo 2 es una de las enfermedades con mayor crecimiento de la salud pública del mundo. Dicha enfermedad genera un aumento en el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y la enfermedad coronaria. Los niveles de glucosa en sangre que se determinan para diagnosticar dicha patología han sido considerados como un umbral para las complicaciones microvasculares como la retinopatía (Ahn y col., 2017).

### **2.8.3. Triglicéridos**

Gran parte de los ácidos grasos del cuerpo humano se encuentra en forma de triglicéridos. Los triglicéridos, también denominados grasas neutras, son ésteres de glicerol y su función es actuar como compuestos de energía altamente concentrada. La síntesis de triglicéridos se lleva a cabo fundamentalmente en el intestino, hígado y tejido adiposo. El intestino y el hígado sintetizan triglicéridos para la exportación a otros tejidos, mientras que el tejido adiposo sintetiza triglicéridos para almacenarlos como reserva (Sánchez y Gil, 2001).

La cantidad de lípidos totales en el cuerpo y la distribución en la que se encuentran son de más importancia que la sola medición de la masa corporal para la evaluación de la obesidad. En la actualidad, existen diversos métodos usados para determinar

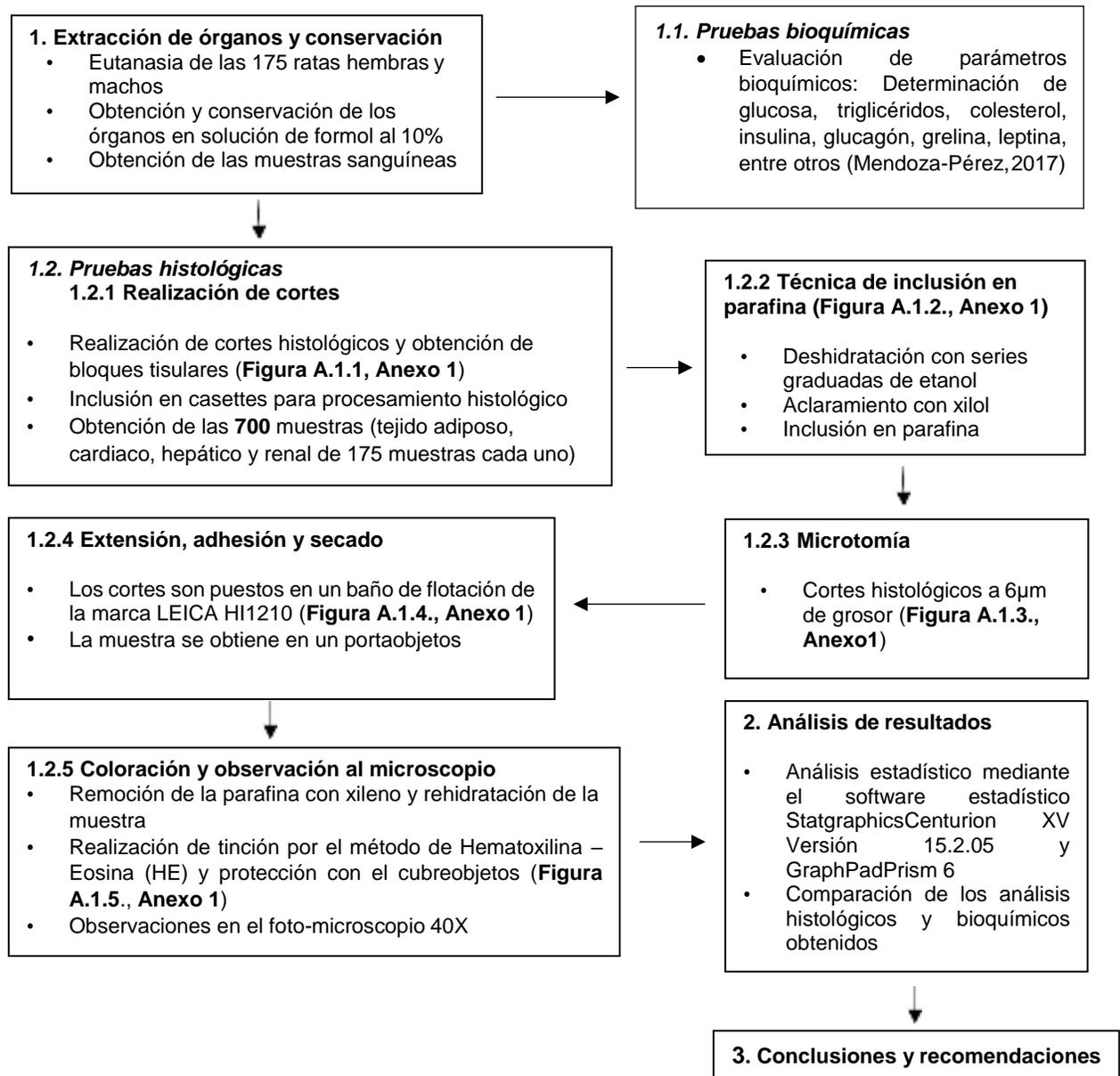
esa distribución. Entre los más confiables, se encuentran los modelos de composición corporal múltiples, medición de la masa corporal bajo el agua, pletismografía (desplazamiento de aire, ver Glosario), técnicas que regulan el gasto energético corporal y la densitometría ósea mediante rayos X. En este caso, existe una fuerte correlación entre el índice de masa corporal y el porcentaje de lípidos en el organismo. Es importante mencionar que la cantidad de lípidos totales son los que tienen un rol importante en los desórdenes metabólicos (Çelik y col., 2015).

## CAPÍTULO 3

### METODOLOGÍA

#### 3.1. Esquema general de la investigación

A continuación, en la **Figura 8** se expondrá la metodología seguida durante el desarrollo experimental de esta investigación.



**Figura 8.** Diagrama general de la metodología seguida durante la investigación

### 3.2. Descripción de la metodología

La descripción completa de la metodología se presenta en la tesis de Maestría en Ciencias previa a esta investigación (Mendoza-Pérez, 2017), donde se dan los resultados de ganancia de masa corporal, relación de masa de órganos:masa del espécimen, evaluación de parámetros bioquímicos como la determinación de glucosa, triglicéridos, colesterol, insulina, glucagón, grelina, leptina, entre otros para los animales modelo de 11 grupos o lotes con 8 ratas en cada uno de los dos sexos, machos y hembras. Se inició este experimento con ratas Wistar recién destetadas y su duración fue de 120 días. Considerando la publicación de Sengupta (2013), se podría señalar que estos animales modelo estarían simulando la edad de seres humanos de 2 años (destete natural) hasta 17 años (**Anexo 6**). El diseño experimental consideró dos variables, el sexo (masculino y femenino) y el tipo de edulcorante ingerido con el agua potable suministrada (nueve edulcorantes, tres calóricos y 6 hipocalóricos) y la variable de respuesta fue el efecto sobre la salud general de los animales modelo.

En esta fase de la investigación se llevaron a cabo diversas actividades en torno a la fijación, tinción y observación del tejido adiposo retroperitoneal y de los tejidos de los órganos riñones, hígado y corazón de las 176 ratas (88 hembras y 88 machos) que estuvieron en experimentación durante 120 días después del destete como ya se mencionó.

Todos los lotes con excepción de uno tuvieron como alimento la dieta normal para esta cepa de ratas, Wistar, la llamada Teklad Global (18% de proteína, 6.2% de lípidos y 44.2% de carbohidratos): Ese único lote se usó para probar una dieta llamada por el proveedor AIN 93M (12.4% de proteína, 4.1% de lípidos y 68.4% de carbohidratos), con objeto de evaluar el efecto de un exceso de carbohidratos: 30% más que la dieta normal y un 30% menos de proteína que la dieta normal (Envigo, 2018). La información pertinente se presenta en el **Anexo 5**.

Como bebida se tuvieron las soluciones de agua potable con los edulcorantes de prueba, uno para cada lote. Los dos lotes control, uno con la dieta normal (Teklad Global) y el otro con la dieta AIN93M, consumieron agua potable sin ningún edulcorante. Los edulcorantes calóricos suministrados fueron: fructosa (10%), glucosa (10%) y sacarosa (10%). Los edulcorantes hipocalóricos fueron: acesulfame de potasio (0.05%), sucralosa (0.017%), infusión de hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (0.94%), sacarina (0.033%), aspartame (0.3 %), una mezcla de aspartame con acesulfame de potasio (0.15%). Tanto las dietas como el agua sin y con edulcorantes fueron suministrados *ad libitum*.

Transcurridos los 120 días de experimentación y después de practicar la eutanasia adormeciendo a los especímenes con CO<sub>2</sub> para que no sufrieran estrés (**Figura A.2.1, Anexo 2**), se procedió a separar los órganos de interés (**Figura A.2.2, Anexo 2**) y se transfirieron a una solución de formol al 10% v/v para endurecer los tejidos (debido a la desnaturalización y coagulación de las proteínas) y fijar las muestras (evitando la autólisis, heterólisis y descomposición bacteriana).

Ya conservados en formol, se almacenaron hasta realizar las pruebas histológicas mediante los procesos de fijación y tinción de cada tejido. Estas actividades fueron muy importantes ya que, con base en esta metodología, fue posible tener las muestras de cada órgano en un portaobjetos pudiendo, de esta manera, visualizar algún posible daño histológico con la ayuda de un foto-microscopio a un aumento de 40X (**Figura A.2.3, Anexo 2**).

De cada órgano almacenado en frascos conteniendo formalina etiquetados con número de rata, género y lote al que pertenecían (controles o de prueba), se realizaron los cortes histológicos para, mediante la disminución del tamaño de la muestra, colocarlos en cassettes para su procesamiento histológico (**Figura A.2.4, Anexo 2**).

En este paso, el corte se realiza sobre una superficie plana y con una navaja (ambos limpiados con una solución de etanol) teniendo la precaución de abarcar todo el órgano

y no solamente un solo lado, ya que esto podría arrojar resultados menos confiables debido a que no se contaría con el panorama completo del tejido en cuestión. Las muestras se llevaron al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México donde se realizó la deshidratación de cada muestra de los órganos con ayuda de un sistema automático de infiltración de tejidos marca Leica Biosystem® modelo TP1020 (**Figura A.2.5, Anexo 2**).

En este sistema el tejido pasa por una serie de cilindros que contienen etanol y, conforme el disolvente va aumentando su pureza, el tejido se encontrará al final totalmente inmerso en etanol absoluto logrando una total deshidratación. Es importante que el tejido se encuentre deshidratado para lograr cortes más limpios. El exceso de etanol se elimina con xilol.

El siguiente paso es el recubrimiento de los tejidos con parafina empleando un sistema modular de inclusión de tejidos marca Leica Biosystems® modelo EG1150 (**Figura A.2.6, Anexo 2**). En él se realiza la inmersión del tejido en parafina líquida a 60°C dentro de un molde específico mediante un dispensador automatizado que regula la temperatura y la cantidad de parafina añadida. Posterior a este proceso, la parafina se debe solidificar a una temperatura menor a 56°C. Con la finalidad de que la adhesión al portaobjetos sea la óptima debe utilizarse un microtomo rotatorio. El empleado fue de la marca Leica Biosystems® modelo RM2125 RTS (**Figura A.2.7, Anexo 2**).

Los cortes obtenidos generalmente presentan arrugas, por lo que es necesario extenderlos y adherirlos a las láminas del portaobjetos. Para esto, los cortes se colocan en un baño de flotación con una superficie de elevada tasa de conductividad térmica marca Leica Biosystems® modelo HI1210 (**Figura A.2.8, Anexo 2**) con la finalidad de que la parafina se suavice y se puedan eliminar las arrugas. Es importante mencionar que la temperatura dentro del agua debe ir aumentándose paulatinamente. Posteriormente, después del baño de flotación se recupera el tejido con la ayuda de un portaobjetos, el cual se deja secar en un sistema de enfriamiento con ayuda de un

sistema modular de inclusión de tejidos marca Leica Biosystems® modelo EG1150 (**Figura A.2.9, Anexo 2**) en la cual se mantiene una temperatura constante de  $-5^{\circ}\text{C}$  para que la parafina solidifique nuevamente y pueda ser removida posteriormente con xilol.

Finalmente se realiza la rehidratación del tejido para continuar con la tinción empleando la metodología de Hematoxilina-Eosina (HE) en la cual las uniones electrostáticas juegan un papel fundamental para su coloración. Los grupos con carga negativa, como los ácidos nucleicos (grupos fosfóricos) o las proteínas (-COOH) se unen con el colorante básico (hematoxilina), ya que se comportan como cationes. El colorante ácido (eosina) con cargas electronegativas se fija fundamentalmente con los grupos con carga positiva (grupos amino de las proteínas). El proceso de tinción se compone de diversas etapas que contemplan la eliminación del exceso de colorante por diferenciación con agua, alcohol o ácidos débiles, la clarificación con xilol, adición de resinas como el bálsamo de Canadá, entre otros (Sandritter y Thomas, 1979). (**Figura A.2.10, Anexo 2**). La observación al microscopio se basa en la identificación de la estructura tisular del hígado y/o riñones, en la cual se observaron de coloración azul (hematoxilina), los organelos citoplasmáticos basófilos, los núcleos celulares y la presencia de calcio; por otra parte, de coloración roja (eosina) se observaron los citoplasmas y las fibras conjuntivas (Sandritter y Thomas, 1979).

Para terminar, se mencionará que solamente se analizó una muestra de cada tejido (cuatro órganos, 175 animales modelo, dando 700 portaobjetos para analizar). Estos portaobjetos se conservarán para, en un estudio posterior, tomar muestras de otras cuatro partes de cada órgano y poder comparar al menos 5 portaobjetos de cada tejido, dando un total de 3,500 datos experimentales. De los dos riñones se tomó al azar uno de ellos para tomar el corte inicial de cada animal modelo.

### 3.3. Análisis estadístico

La magnitud del posible daño histológico existente en las estructuras tisulares se fundamenta en la aparición de anomalías morfológicas observadas a nivel microscópico comparando las micrografías obtenidas con las existentes en la literatura para los órganos de ratas Wistar de la misma edad así como con los órganos de los animales modelo del lote control. Con base en esto se asignan 4 niveles de daño observado de la siguiente manera:

Daño grave: + + +    Daño moderado: + +    Daño leve: +    Ausencia de daño: -

Para ello, se toman en cuenta seis parámetros asociados con daño renal, hepático y cardíaco, así como un parámetro específico para el tejido adiposo retroperitoneal; todos ellos causados en el caso de esta investigación, por un lado por la dieta AIN93M consumida o por los edulcorantes suministrados con el agua potable.

Estos parámetros son: (1) Pigmento de desgaste o lipofuscina (para tejido del miocardio -corazón-), (2) Necrosis miocardia (corazón), (3) Degeneración vacuolar (hígado), (4) Fibrosis/Inflamación (hígado), (5) Daño glomerular por incremento en células mesangiales (riñones), (6) Degeneración celular tubular (riñones) y (7) Longitud mayor adipocitaria (Tejido adiposo retroperitoneal).

Para realizar el análisis estadístico (análisis de varianza, ANDEVA, de dos vías, relación de medias y pruebas *a posteriori* con un nivel de confianza del 95%) de los resultados de estos parámetros, se asigna un número a cada nivel de daño. De esta manera se logra identificar la posible diferencia entre los animales modelo de los grupos que consumieron los edulcorantes en estudio, dependiendo de su sexo, con respecto del nivel de daño histológico. Estos números fueron:

+ + + = 3,      + + = 2,      + = 1,      - = 0

Por ejemplo, en la **Tabla A.3.1, Anexo 3**, se ejemplifica la asignación de los niveles de daño en cada tejido. Cabe mencionar que el prototipo de esta tabla es igual para cada una de las 175 ratas. En la **Tabla A.3.2, Anexo 3**, se muestran los resultados generales de los parámetros evaluados.

También es importante considerar que, para este análisis, no se tomó en cuenta la rata número 154 del grupo que ingirió sacarosa del sexo masculino, debido a que falleció la noche anterior a la eutanasia y, desafortunadamente, como no había presentado ningún síntoma en los 120 días de duración del experimento, no pudo determinarse la causa de la muerte.

Finalmente, el análisis estadístico se realizó con los paquetes informáticos STATGRAPHICS Centurion XV Versión 15.2.05 y GraphPadPrism 6.

## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Resultados histológicos

##### 4.1.1. Corazón

###### 4.1.1.1. Lipofuscina

Uno de los parámetros que se evaluó en el tejido a nivel miocardio fue el compuesto de desgaste lipofuscina. En la **Tabla 1** se muestran los resultados asociados a este parámetro. Al tener valores de  $P > 0.05$  en los factores edulcorante (0.4661), sexo (0.1051) y la interacción entre ambos factores (0.8108) se puede mencionar que no hubo un efecto estadísticamente significativo para ninguno de ellos. Es importante resaltar que dicho pigmento es un bioindicador preciso de estrés y envejecimiento celular (Ross y Pawlina, 2008; Silva, 2009).

**Tabla 1.** Análisis de varianza para lipofuscina con un 95% de confianza

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
<b>A:Edulcorante</b>	2.3813	10	0.2381	0.98	0.4661
<b>B:Sexo</b>	0.6480	1	0.6480	2.66	0.1051
Interacciones					
<b>AB</b>	1.4666	10	0.1467	0.60	0.8108
Residuos	37.3036	153	0.2438		
Total (corregido)	41.7943	174			

GI: Grados de libertad

En un estudio realizado con ratones (Silva, 2009) se observó que la presencia de lipofuscina fue notoria a partir de los 4-6 meses de edad. Por tanto, para observar tal característica en este experimento, habría sido necesario que el estudio fuese llevado

a cabo con un tiempo mayor al de esta investigación (al menos entre 120 y 180 días después del destete). La lipofuscina en el caso de los seres humanos se desarrolla principalmente en edades avanzadas, por lo que su presencia está ligada a distintos factores; uno de ellos es la peroxidación lipídica y el otro el daño mitocondrial (Fiorelini y col., 2014). Por tanto, al no presentar daño aparente en estos animales, se tendría que tomar en cuenta la relación inter-especie (entre ratas y humanos) para analizar que la dieta no es la única causa que da origen a este pigmento (**Anexo 6**).

#### **4.1.1.2. Necrosis a nivel miocardio**

Por otra parte, se analizó el nivel de daño con relación a la posible presencia de necrosis en tejido a nivel miocardio. De acuerdo con los resultados presentados en la **Tabla A.3.2, Anexo 3**, ningún animal en estudio presentó dicha característica. Por tanto, no hay presencia de ningún daño morfológico a nivel celular agudo o crónico que involucre la presencia de alguna patología respecto a la ingesta de edulcorantes (Martínez, 2006). Por ello, se recomienda un estudio que involucre un mayor tiempo con el objetivo de analizar la posible presencia de necrosis a nivel miocardio y a la presencia de lipofuscina.

#### **4.1.2. Hígado**

##### **4.1.2.1. Degeneración vacuolar**

De acuerdo con los resultados obtenidos durante la experimentación y con las tablas de resultados **A.3.1.** y **A.3.2.** encontradas en el **Anexo 3**, se realizó el análisis de varianza que se puede observar en la **Tabla 2**.

En la **Tabla 2** puede verse que tanto para el daño asociado con los edulcorantes y con la interacción entre sexo y edulcorantes no hubo diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, se puede observar que para el factor sexo sí existe una

diferencia significativa, lo que indica que el comportamiento entre las ratas macho y las ratas hembra fue distinto.

**Tabla 2.** Análisis de varianza para degeneración vacuolar con un 95.0% de confianza

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
<b>A: Edulcorante</b>	4.6130	10	0.4613	0.8500	0.5817
<b>B: Sexo</b>	3.0609	1	3.0609	5.6400	<b>0.0188</b>
Interacciones					
<b>AB</b>	8.1282	10	0.8128	1.5000	0.1452
Residuos	83.0536	153	0.5428		
Total(corregido)	98.8571	174			

GI: Grados de libertad

Para esto, se realizó una prueba de rangos múltiples por el método de Duncan al 95% de confianza, la cual se puede observar en la **Tabla 3**. En ella se muestra que las ratas hembras presentaron un mayor nivel de daño hepático vacuolar que las ratas macho y, a su vez, se confirma que el comportamiento no fue homogéneo entre ambos sexos.

**Tabla 3.** Prueba de rangos múltiples por el método de Duncan al 95.0 % de confianza para degeneración vacuolar en hígado

Sexo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos homogéneos
M	87	0.8864	0.0785	X
H	88	1.1510	0.0790	X
<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>		
H - M	*	0.2646		

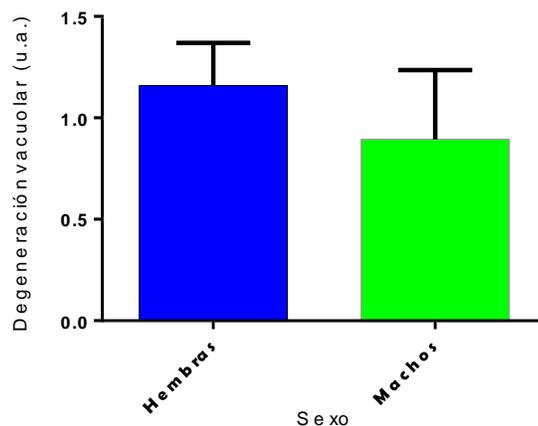
\* indica una diferencia significativa

LS: *Least squares*, por sus siglas en inglés. Mínimos cuadrados

Para este caso, es importante mencionar que aquellas células con un metabolismo activo, por ejemplo, los hepatocitos, son aquellas que presentan mayor susceptibilidad a tener daños celulares (Kumar, 2015).

Muchas de estas lesiones se asocian con la aparición de pequeñas vacuolas lipídicas en el citoplasma alrededor del núcleo. Posteriormente, las vacuolas se fusionan para crear espacios que desplazan al núcleo hacia la periferia de la célula lo que en algunos casos induce la ruptura de células vecinas y sus glóbulos de grasa se fusionan produciendo los denominados quistes grasos o lipídicos (Kumar, 2015). Dicho esto, la asociación de este daño con la presencia de lípidos es importante y es probable que aquellas ratas que tuvieron una mayor presencia de daño por degeneración vacuolar sean propensas a padecer hígado graso al llegar a la tercera edad.

De acuerdo con el estudio de Shimony y col. (2015), la exposición habitual en el consumo de bebidas edulcoradas con sacarosa, con azúcar añadida y en un nivel mayor notable con fructosa total, puede afectar la lipogénesis hepática de mujeres jóvenes sin condiciones de salud aparentemente adversas, incluso en niveles moderados. De igual forma, con base en esta investigación y en un incremento de dos enzimas del hígado (alanina y aspartato aminotransferas) Shimony y col. (2015) teorizan que “existe un riesgo para la población de mujeres de padecer hígado graso”. De acuerdo con esta afirmación, se puede observar en la **Figura 9** la confirmación de que las ratas hembra tendieron a presentar mayor degeneración vacuolar que las ratas macho, con un valor de leve a moderado para las ratas hembra (1.15) y de nulo a leve para las ratas macho (0.89).



**Figura 9.** Nivel del daño degeneración vacuolar con respecto al sexo

De acuerdo con esto, se realizó un análisis de varianza de una vía para cada sexo, los cuales se muestran en las **Tablas 4 y 5**.

**Tabla 4.** Análisis de varianza para degeneración vacuolar con un 95.0% de confianza para ratas hembras con respecto al edulcorante

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	3.5227	10	0.3523	0.59	0.8202
Intra grupos	46.2500	77	0.6006		
Total (Corr.)	49.7727	87			

Gl: Grados de libertad

**Tabla 5.** Análisis de varianza para degeneración vacuolar con un 95.0% de confianza para ratas macho con respecto al edulcorante

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	6.6160	10	0.6616	0.81	0.6225
Intra grupos	62.3036	76	0.8198		
Total (Corr.)	68.9195	86			

Gl: Grados de libertad

Basado en estos resultados es posible afirmar que no hubo diferencias significativas ni para machos ni para hembras con respecto a los edulcorantes, por lo cual esto indica que el daño hepático presentado para ambos sexos no fue asociado directamente con los edulcorantes.

La degeneración vacuolar en hígado puede inducirse por factores ajenos a la experimentación. Entre ellos se encuentran los agentes patológicos que propicien un daño subletal con relación a las alteraciones en la membrana plasmática y que reflejen trastornos en la regulación de iones y fluidos producidos por la pérdida de ATP (Kumar, 2015).

De igual forma, según el estudio de Mock y col., (2016), la acumulación de triglicéridos en el hígado se puede deber a la disminución en la capacidad de liberar lipoproteínas ricas en triglicéridos debido a la limitación física del hígado en exportar lipoproteínas de baja densidad (*LDL*), las cuales exceden el diámetro de los poros endoteliales con disposición sinusoidal. Para esto, se recomienda incrementar los estudios realizados, como por ejemplo la expresión de la proteína microsomal transferidora de triglicéridos (*MTP*) la cual, según Mock y col. (2016), “es necesaria para coordinar y secretar las lipoproteínas ricas en triglicéridos del hígado”.

#### 4.1.2.2. Fibrosis/Inflamación

Por otra parte, se analizó también el daño de fibrosis e inflamación en el tejido hepático. En la **Tabla 6** se presenta el análisis de varianza que se realizó con la finalidad de comparar dicho daño con la posible influencia de los edulcorantes, así como con el sexo de las ratas.

**Tabla 6.** Análisis de varianza para fibrosis e inflamación con un 95.0% de confianza

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
<b>A: Edulcorante</b>	5.0174	10	0.5017	1.4700	0.1555
<b>B: Sexo</b>	0.3115	1	0.3115	0.9100	0.3409
Interacciones					
<b>AB</b>	1.5616	10	0.1562	0.4600	0.9147
Residuos	52.2143	153	0.3413		
Total (corregido)	59.1200	174			

GI: Grados de libertad

En la **Tabla 6** se aprecia que no existen diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los parámetros. Si se llegará a observar alguna diferencia, este comportamiento se podía deber a diversos factores externos que promuevan el daño, como la dieta consumida, los factores genéticos, las enfermedades asociadas, entre otros.

Este apartado se complementará con la discusión relacionada a las pruebas bioquímicas de las que se hablará más adelante.

### 4.1.3. Riñones

#### 4.1.3.1. Daño glomerular

En la **Tabla 7** se muestra el análisis de varianza con respecto al daño glomerular para los cambios morfológicos en los riñones considerando tanto el edulcorante ingerido como el sexo de los especímenes, encontrándose que el valor de  $P > 0.05$  para los factores edulcorantes, sexo e interacción entre ambos no presentan una diferencia estadísticamente significativa.

**Tabla 7.** Análisis de varianza para daño glomerular con un 95.0% de confianza

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
<b>A: Edulcorante</b>	6.2746	10	0.6275	0.7600	0.6704
<b>B: Sexo</b>	0.8521	1	0.8521	1.0300	0.3124
Interacciones					
<b>AB</b>	10.8142	10	1.0814	1.3000	0.2332
Residuos	126.9290	153	0.8296		
Total (corregido)	144.7770	174			

GI: Grados de libertad

Dado que los riñones participan en diversas funciones metabólicas tales como producción de orina, regulación del equilibrio electrolítico, regulación del movimiento y pérdida de agua de forma concertada con la piel y los pulmones y excreción de desechos metabólicos (Carmona, 2016), no se atribuyeron los cambios morfológicos en el glomérulo a la ingesta de edulcorantes o al sexo de los especímenes en estudio.

De igual forma, es importante mencionar que los pacientes que padecen de alguna de las alteraciones metabólicas englobadas en el término síndrome metabólico (obesidad, glucosa elevada en sangre, presión sanguínea alta, niveles séricos de colesterol alto y resistencia a la insulina, ver Glosario) tienden a presentar daños en el tejido renal

que pueden provocar enfermedades de los riñones e incluso pueden provocar un fallo renal. Entre las mayores patologías con respecto a este órgano se encuentran la hipertrofia (proliferación de células glomerulares) y la esclerosis (Li y col., 2015).

Además, actualmente en México la etiología más frecuente es la diabetes *mellitus*, siendo responsable del 50% de los casos de enfermedad renal, seguida por la glomerulonefritis (daño glomerular) y la hipertensión arterial (Venado y col., 2016).

#### 4.1.3.2. Degeneración celular tubular

Por otra parte, se realizó la evaluación de la degeneración celular tubular tomando en consideración el túbulo distal, el túbulo proximal y el túbulo colector. Para ello, se realizó un análisis de varianza incluyendo los factores sexo y edulcorante. Dicho análisis se aprecia en la **Tabla 8** donde se observa que no hubo diferencia estadísticamente significativa ni para el factor edulcorante ni para el factor sexo.

**Tabla 8.** Análisis de varianza para degeneración celular tubular con un 95.0% de confianza

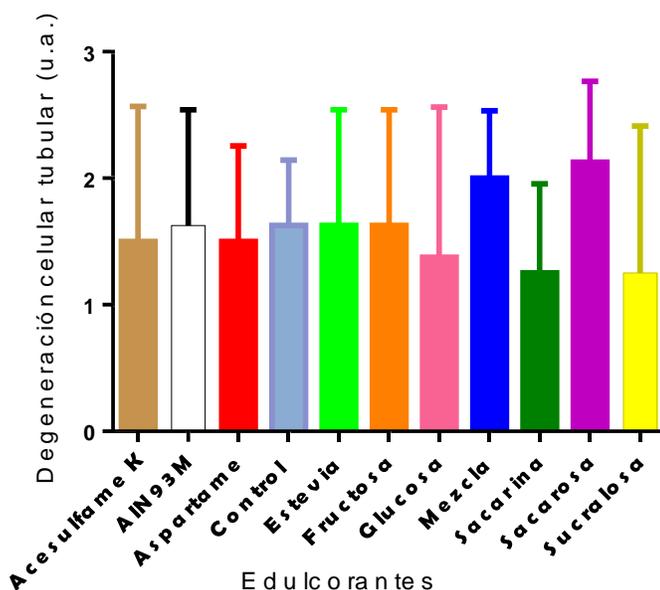
Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
<b>A: Edulcorante</b>	3.6047	10	0.3605	0.4300	0.9292
<b>B: Sexo</b>	3.0986	1	3.0986	3.7100	0.0559
Interacciones					
<b>AB</b>	17.4035	10	1.7404	2.0800	<b>0.0288</b>
Residuos	127.7140	153	0.8347		
Total (Corregido)	151.5090	174			

GI: Grados de libertad

Sin embargo, es posible notar que existe una diferencia significativa para la interacción entre ambos factores. Esta diferencia indica que el daño histológico no siguió la misma tendencia entre machos y hembras con respecto a cada edulcorante, es decir, el nivel de daño que se presentó para los grupos de ratas macho ingiriendo edulcorantes no

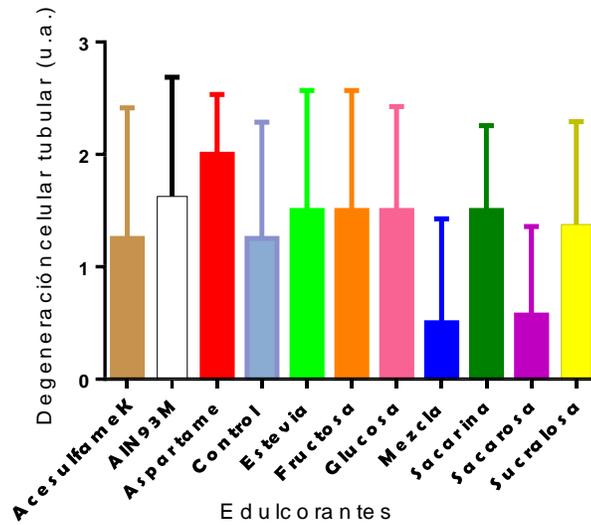
fue el mismo que para las ratas hembra. Esta tendencia se observa en las **Figuras 10 y 11**.

Se observa en la **Figura 10** que el grupo de ratas hembra que consumieron sacarosa y la mezcla de acesulfame de potasio con aspartame fueron las que presentaron el mayor daño renal, sin embargo, en la **Figura 11** se observa que el grupo de ratas macho que consumieron los mismos edulcorantes fueron las que presentaron el nivel de daño menor. Esto corrobora que el comportamiento metabólico de las ratas macho y las ratas hembra fue distinto con respecto a la ingesta de edulcorantes ( $P= 0.0288$ , **Tabla 8**).



**Figura 10.** Nivel de degeneración celular tubular para ratas hembra por edulcorante

Dicho esto, en las **Tablas 9 y 10** se presentan los análisis de varianza para la degeneración celular tubular de las ratas macho y las ratas hembra, apreciándose que las diferencias que existen entre ambos sexos no fueron significativas ( $P>0.05$ ). Estos análisis indicaron que no hay diferencias estadísticas en el nivel de degeneración celular tubular atribuibles al sexo o edulcorante ingerido.



**Figura 11.** Nivel de degeneración celular tubular para ratas macho por edulcorante

**Tabla 9.** Análisis de varianza para degeneración celular tubular con un 95.0% de confianza para ratas hembra con respecto al edulcorante

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	6.0227	10	0.6023	0.7800	0.6451
Intra grupos	59.2500	77	0.7695		
Total (Corr.)	65.2727	87			

GI: Grados de libertad

**Tabla 10.** Análisis de varianza para degeneración celular tubular con un 95.0% de confianza para ratas machos con respecto al edulcorante

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	13.5298	10	1.3530	1.4700	0.1661
Intra grupos	69.8036	76	0.9185		
Total (Corr.)	83.3333	86			

GI: Grados de libertad

Los resultados anteriores indicaron que los edulcorantes no indujeron directamente la degeneración celular tubular. Sin embargo, existen estudios como el de Toyoda y col. (2018) que manifiestan la posibilidad de que indirectamente puedan provocarlo. Es

importante mencionar que las células tubulares forman parte de la unidad funcional de los riñones (nefronas) por lo que al haber una degeneración puede provocar daños en el tejido renal induciendo patologías asociadas con el mismo.

#### 4.1.4. Tejido adiposo retroperitoneal

##### 4.1.4.1. Longitud mayor adipocitaria

De acuerdo con el único parámetro evaluado en tejido adiposo retroperitoneal, se realizó el análisis de varianza mostrado en la **Tabla 11**. En dicha tabla se denota la existencia de diferencias estadísticamente significativas. La primera de ellas es en el factor sexo con una  $P=0.0006$  y la segunda en la interacción entre los edulcorantes analizados y el sexo con una  $P=0.0452$ .

**Tabla 11.** Análisis de varianza para longitud mayor adipocitaria con un 95% de confianza

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Efectos principales					
<b>A: Edulcorante</b>	4363.31	10	436.331	0.84	0.5869
<b>B: Sexo</b>	2107.91	1	2107.91	4.08	0.0452
Interacciones					
<b>AB</b>	17272.8	10	1727.28	3.34	0.0006
Residuos	79076.0	153	516.836		
Total (corregido)	102837.	174			

GI: Grados de libertad

Con respecto al sexo, se realizó una prueba de rangos múltiples por el método de Duncan al 95% de confianza, la cual se puede observar en la **Tabla 12**. En ella se aprecia que las ratas macho fueron las que presentaron mayor longitud adipocitaria ( $86.40\mu\text{m}$ ) con respecto a las ratas hembras ( $79.46\mu\text{m}$ ) y se confirma la diferencia estadística entre ambos sexos.

**Tabla 12.** Prueba de rangos múltiples por el método de Duncan al 95.0 % de confianza para longitud mayor adipocitaria

Sexo	Casos	Media LS (µm)	Sigma LS	Grupos homogéneos
H	88	79.4557	2.4235	X
M	87	86.3996	2.4391	X
Contraste	Sig.	Diferencia		
H – M	*	-6.9439		

\* indica una diferencia significativa.  
 LS: *Least squares*, por sus siglas en inglés. Mínimos cuadrados

Se realizaron los análisis de varianza de forma independiente para hembras y para machos (ANDEVA de una vía). En la **Tabla 13** se muestra que para el caso de las ratas macho no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los edulcorantes con relación a la longitud mayor adipocitaria. No obstante, para el caso de las ratas hembra (**Tabla 14**) se observa que sí hubo una diferencia estadísticamente significativa teniendo un valor de  $P < 0.05$ .

**Tabla 13.** Análisis de varianza de la longitud mayor adipocitaria con respecto a las ratas macho

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8048.52	10	804.852	1.38	0.2051
Intra grupos	44281.7	76	582.654		
Total (Corr.)	52330.2	86			

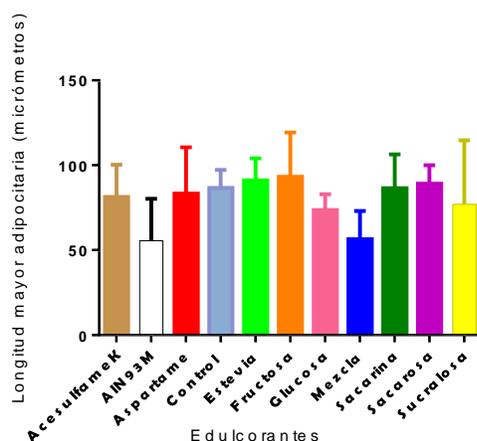
Gl: Grados de libertad

**Tabla 14.** Análisis de varianza de la longitud mayor adipocitaria con respecto a las ratas hembra

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	13469.8	10	1346.98	2.98	0.0032
Intra grupos	34794.3	77	451.874		
Total (Corr.)	48264.1	87			

Gl: Grados de libertad

Lo anterior indicó que la longitud mayor adipocitaria en ratas hembra dependió del edulcorante ingerido. La longitud adipocitaria es un indicativo de la cantidad de lípidos que se encuentran en el tejido adiposo retroperitoneal y, con ello, la posible influencia en el padecimiento de obesidad. De acuerdo con estos hallazgos, se realizó un gráfico donde se muestran las medias correspondientes a cada edulcorante para las ratas hembra. Este se muestra en la **Figura 12**. En ella se observa que el edulcorante que presentó mayor longitud adipocitaria fue la fructosa (93.18  $\mu\text{m}$ ). Cabe resaltar que diversas investigaciones debaten acerca de que el consumo elevado de este edulcorante se ha asociado con un aumento en los niveles de triglicéridos, de la grasa visceral, de la presión arterial, de la resistencia a la acción hipoglucemiante de la insulina y a una disminución de los niveles de HDL-colesterol. A su vez, estas variaciones se han asociado a un aumento en el riesgo de padecer alguna enfermedad cardiovascular (Bray y col., 2004; Brymora y col., 2012; Johnson y col., 2007, 2009, 2010; Jürgens y col., 2005; Martínez-Tinajero y col., 2007; Tappy y Lê, 2015; Wylie-Rosett y col., 2004). De igual forma, en seres humanos el consumo de fructosa se asocia a un aumento significativo de la masa corporal, es decir, contribuye a un aumento en la adiposidad (Gómez y col., 2017; Riveros y col., 2014). Esto concuerda con los resultados obtenidos durante la investigación.



**Figura 12.** Nivel de longitud mayor adipocitaria para ratas hembra por edulcorante

## 4.2. Comparación de pruebas histológicas con pruebas bioquímicas

De acuerdo con los resultados obtenidos durante la experimentación en relación con las determinaciones histológicas, se realizó una complementación de la investigación con los resultados de las pruebas bioquímicas publicados por Mendoza-Pérez (2017).

Las pruebas bioquímicas realizadas por este autor fueron:

- ✓ Cuantificación de la hormona incretina *GIP*.
- ✓ Determinación de glucosa
- ✓ Cuantificación de los niveles séricos de colesterol
- ✓ Cuantificación de triglicéridos en plasma sanguíneo.
- ✓ Cuantificación de las hormonas leptina, grelina, insulina y glucagón.

Para facilitar esta comparación se realizaron los gráficos mostrados en el **Anexo 4** en donde se muestran los niveles de daño encontrados para cada tejido analizado con respecto a los edulcorantes suministrados a las ratas macho y hembra.

### 4.2.1. Cuantificación del péptido insulínico dependiente de glucosa (*GIP* en inglés)

Para el análisis de la correlación existente entre los niveles de *GIP* y la longitud mayor adipocitaria se realizó la comparación de los edulcorantes que presentaron una diferencia estadísticamente significativa con respecto del grupo control en contraste con los mismos edulcorantes asociados a su longitud mayor adipocitaria observados en la **Figura A.4.6, Anexo 4**. Esta comparación se muestra en las **Tablas 15 y 16**.

Como se puede observar en la **Tabla 15** las ratas macho que consumieron el edulcorante fructosa muestra un nivel de *GIP* mayor y una longitud adipocitaria menor con respecto al grupo control, lo que concuerda con la teoría de que los carbohidratos estimulan dicha hormona principalmente en ratas y puercos (Baggio y Drucker, 2007). Además, se observó que las ratas macho que ingirieron los edulcorantes hipocalóricos (aspartame y sucralosa) junto con el grupo control AIN93M presentaron niveles de *GIP* inferiores y, a su vez, mostraron una longitud adipocitaria superior, ambas con respecto

a la información obtenida para el grupo control. Lo anterior concuerda con la teoría de Zhang y col. (2017) en la que se menciona que las hormonas que contribuyen con la saciedad y que son secretadas por las células endocrinas como, por ejemplo, el polipéptido insulínico dependiente de glucosa (*GIP*), son aquellas que inhiben fisiológicamente el consumo de alimentos. Es decir, aquellas ratas que presentaron niveles altos de *GIP* muestran mayor saciedad, influyendo en que el consumo de alimento sea menor; por tanto, aumenta la probabilidad de que la longitud adipocitaria sea pequeña.

**Tabla 15.** Comparación de la longitud mayor adipocitaria con respecto a los niveles de *GIP* para ratas macho

Determinación Edulcorante	Péptido insulínico dependiente de glucosa ( <i>GIP</i> ) (Mendoza-Pérez, 2017)	Longitud mayor adipocitaria (L.M.A.)
Fructosa	↑	↓
AIN 93M	↓	↑
Aspartame	↓	↑
Sucralosa	↓	↑

↑ Grupo de ratas que presentaron un nivel mayor al del grupo control

↓ Grupo de ratas que presentaron un nivel menor al del grupo control

Por otra parte, en la **Tabla 16** se observa que el edulcorante hipocalórico sucralosa mostró un nivel de *GIP* y de longitud adipocitaria menor con respecto al grupo control.

**Tabla 16.** Comparación de la longitud mayor adipocitaria con respecto a los niveles de *GIP* para ratas hembra

Determinación Edulcorante	Péptido insulínico dependiente de glucosa ( <i>GIP</i> ) (Mendoza-Pérez, 2017)	Longitud mayor adipocitaria (LMA)
Sucralosa	↓	↓

↓ Grupo de ratas que presentaron un nivel menor al del grupo control

Este comportamiento fue diferente en las ratas macho debido a que es posible notar que la longitud mayor adipocitaria no se ve directamente afectada por la hormona *GIP*; es decir, se esperaba que, al haber disminución de la hormona, aumentara el consumo

de alimento y, con ello, la longitud mayor adipocitaria. Esto se puede explicar debido a que la regulación de la saciedad no solo involucra al péptido, sino también se ven involucradas diversas proteínas. De acuerdo con Giezenaar y col. (2017) “la secreción o acción de las hormonas que regulan la saciedad como por ejemplo la grelina, la colecistoquinina, el péptido similar al glucagón tipo 1 (*GLP 1*) y el péptido tirosina tirosina (*PYY*) así como la tasa de vaciamiento y la distensión gástrica juegan un papel importante en la regulación del apetito y la energía absorbida”. Estos hallazgos indican que es importante realizar más estudios al respecto para poder obtener resultados más certeros.

#### **4.2.2. Determinación de glucosa**

De acuerdo con Mendoza-Pérez (2017) “en el caso de las ratas macho, el consumo crónico de edulcorantes calóricos o hipocalóricos, acompañados de una dieta balanceada, no modifican los niveles séricos en ayuno de glucosa”. Con respecto a las ratas hembra, sí existieron diferencias estadísticamente significativas en los niveles séricos de glucosa en ayuno atribuibles al consumo crónico de edulcorantes calóricos e hipocalóricos. Sin embargo, los niveles encontrados se encuentran dentro de los valores normales para glucosa en sangre.

#### **4.2.3. Cuantificación de colesterol**

Con respecto a la cuantificación de colesterol, Cofan (2014) confirmó que se puede reducir la incidencia en padecer enfermedad cardíaca coronaria “al disminuir las cifras de colesterol. Desde entonces, numerosos estudios epidemiológicos y clínicos han confirmado la asociación positiva entre colesterol total y colesterol transportado en lipoproteínas de baja densidad (LDL) y el riesgo de desarrollar arteriosclerosis y enfermedad cardíaca coronaria”. De igual forma, según King (2015) “un poco menos de la mitad del colesterol en el cuerpo se deriva de la biosíntesis *de novo*. Cada día, aproximadamente el 10% de la biosíntesis del colesterol se hace en el hígado y, aproximadamente, 15%, en el intestino”. Dicho esto, el apartado se enfoca directamente al análisis del tejido cardíaco y del tejido hepático con respecto de los

niveles séricos de colesterol. Para esto, se realizó una tabla comparativa entre los edulcorantes que indujeron pigmento de desgaste provocado por la peroxidación de lípidos, los que presentaron un cierto nivel de daño por degeneración vacuolar y fibrosis e inflamación (**Figuras A.4.1, A.4.2 y A.4.3**, respectivamente, encontradas en el **Anexo 4**) con respecto a los edulcorantes que presentaron una diferencia estadísticamente significativa con la cantidad de colesterol en plasma sanguíneo reportado por Mendoza-Pérez (2017) para ratas macho y hembra. Estas comparaciones se muestran en las **Tablas 17 y 18**, respectivamente.

Como se puede observar en la **Tabla 17** con respecto a las ratas macho, el único edulcorante que presenta diferencia estadísticamente significativa para los niveles séricos de colesterol es la fructosa. Además, es posible notar que el grupo de ratas que consumió este edulcorante presenta daño hepático (fibrosis e inflamación) y cardíaco (lipofuscina). Esto coincide con el estudio realizado por Guvenc y col. (2017) en el que se realizó una investigación con 28 ratas macho de la cepa Wistar durante 8 semanas reportando que aquellos animales que consumieron fructosa (10% m/v) presentaron el mayor nivel de colesterol ( $3430.20 \pm 19.03 \mu\text{g/g}$ ) y el cual, en dicho estudio, lo asocian con alteraciones en la composición de ácidos grasos en hígado, promoviendo una patología pro-inflamatoria y esteatosis.

**Tabla 17.** Comparación del daño en tejido hepático y cardíaco con respecto a los niveles de colesterol para ratas macho

Determinación Edulcorante	<i>Degeneración vacuolar</i>	<i>Fibrosis / Inflamación</i>	<i>Lipofuscina</i>	<i>Nivel de colesterol (Mendoza-Pérez, 2017)</i>
<b>Fructosa</b>	↓	↑	↑	↑

↑ Grupo de ratas que presentaron un nivel mayor al del grupo control

↓ Grupo de ratas que presentaron un nivel menor al del grupo control

De igual forma, Guvenc y col. (2017) mencionan que “la peroxidación lipídica, la oxidación y el estrés crónico oxidativo están asociados con la patogénesis de la esteatohepatitis no alcohólica. La constante actividad de los radicales libres y su sobreproducción supera la protección por antioxidantes” induciendo la presencia de

daño oxidativo; es decir, un alto nivel de lípidos incrementa la probabilidad de que se genere el pigmento de desgaste lipofuscina.

Por otra parte, respecto a los resultados obtenidos para las ratas hembra observados en la **Tabla 18** es posible notar que el edulcorante calórico fructosa nuevamente estimuló la formación de colesterol en plasma sanguíneo generando daños en tejido renal y hepático. Esto se puede comparar con lo mencionado por Lakkaraju y col. (2007) en el que establecen que “el colesterol modula las propiedades biofísicas de las membranas y participa directamente en el tráfico de lípidos y de proteínas”, por lo que el colesterol promueve la cantidad de lípidos que se encuentran en sangre e incrementa la posibilidad de generar estrés oxidativo. De igual forma, se encontró que los edulcorantes hipocalóricos sucralosa y la mezcla de acesulfame de potasio con aspartame muestran una tendencia similar a la antes mencionada. Esto coincide con lo mencionado en el artículo de Janssens y col. (2017) en el que se menciona “la relación entre los edulcorantes no calóricos con la ganancia de masa corporal”. De acuerdo con ello, el incremento de masa corporal puede promover la acumulación de depósitos lipídicos y generar una patología adversa en el hígado. Esto se comprueba con la investigación de Janssens y col. (2017) donde el edulcorante no calórico aspartame se encuentra en niveles superiores que los presentados en el grupo control con relación al contenido total de lípidos en hígado. Dicho esto, el consumo de estos edulcorantes puede inducir la formación de colesterol el cual, se asocia con la presencia de depósitos lipídicos promoviendo el daño en tejido cardíaco y hepático.

**Tabla 18.** Comparación del daño en tejido hepático y cardíaco con respecto a los niveles de colesterol para ratas hembra.

Determinación Edulcorante	<i>Degeneración vacuolar</i>	<i>Fibrosis / Inflamación</i>	<i>Lipofuscina</i>	<i>Nivel de colesterol (Mendoza-Pérez, 2017)</i>
Mezcla	↑	↑	↓	↑
Sucralosa	↑	↓	↑	↑
Fructosa	↑	↓	↑	↑

↑ Grupo de ratas que presentaron un nivel mayor al del grupo control

↓ Grupo de ratas que presentaron un nivel menor al del grupo control

#### 4.2.4. Determinación de triglicéridos

De acuerdo con King (2015) “la sangre es la que transporta los triglicéridos en la forma de lipoproteínas de muy baja densidad (*vLDL*) y quilomicrones, ácidos grasos unidos a la albúmina, aminoácidos, lactato, cuerpos cetónicos y glucosa. El tejido adiposo tiene la enzima lipasa sensible a hormona, que se activa por fosforilación dependiente de la *PKA* (proteína quinasa dependiente de  $AMP_c$ ) lo que lleva a una liberación de ácidos grasos a la sangre”. Por tanto, este apartado se enfocará directamente en el análisis de los edulcorantes que presentaron mayor nivel de triglicéridos en sangre con respecto la longitud mayor adipocitaria y a la masa del tejido adiposo retroperitoneal de las ratas en estudio. Estas comparaciones se muestran en las **Tablas 19** y **20**.

**Tabla 19.** Comparación de la longitud mayor adipocitaria y masa de tejido adiposo retroperitoneal con respecto a los niveles séricos de triglicéridos para ratas macho

Determinación Edulcorante	Longitud mayor adipocitaria (LMA)	Masa del tejido adiposo retroperitoneal	Niveles séricos de triglicéridos (Mendoza- Pérez, 2017)
AIN 93M	↑	↑	↑
Sucralosa	↑	↑	↑
Sacarosa	↑	↑	↑
Glucosa	↑	↑	↑
Fructosa	↑	↓	↑

↑ Grupo de ratas que presentaron un nivel mayor al del grupo control

↓ Grupo de ratas que presentaron un nivel menor al del grupo control

Como se puede observar en la **Tabla 19** con respecto a las ratas macho, los niveles séricos de triglicéridos son expresados por el grupo control AIN93M, el edulcorante hipocalórico sucralosa y los edulcorantes calóricos sacarosa, glucosa y fructosa. Entre ellos destaca el caso de la estimulación por parte de los glúcidos sacarosa y glucosa donde es posible observar que la correlación existente entre los parámetros comparativos sigue una tendencia similar, es decir, los niveles de triglicéridos, LMA, y masa de tejido adiposo retroperitoneal superan los niveles del grupo control. Además, la tendencia es similar para aquellas ratas que consumieron la dieta AIN93M; esto es explicable debido a que dicha dieta es alta en carbohidratos predominando el

edulcorante sacarosa (100 g/kg véase Anexo 5). Este comportamiento era de esperarse debido a que, de acuerdo con Bobbioni-Harsch y col. (1997), el consumo de carbohidratos estimula la oxidación de la glucosa manteniendo el balance energético en el organismo, es decir, los precursores de dicho mecanismo influyen en la lipogénesis y por tanto influye en el aumento de los triglicéridos.

De igual forma, es posible notar que el edulcorante fructosa no sigue la misma tendencia ya que la masa de tejido adiposo es menor a la que presenta el grupo control, aunque los niveles de triglicéridos y la LMA cumplen con lo antes mencionado. Esto se puede deber a que la cantidad de tejido adiposo estimulado por la lipogénesis se encuentra distribuido en todo el cuerpo por lo que se tendría que sacar un porcentaje de masa corporal para corroborar dicha teoría. Lo anterior se fundamenta con el estudio de Martínez y col. (2010) en el que demuestran que las ratas que consumieron el edulcorante fructosa presentaron mayor ganancia de masa corporal ( $373.60 \pm 26.27$  g) después de que pasaran 73 días de experimentación. Es importante mencionar que el edulcorante sucralosa sigue la misma tendencia que los glúcidos. Esto es posible de explicar debido a que, según Wang y col. (2016), “los edulcorantes hipocalóricos pueden inducir una desregulación en el metabolismo” lo que induciría una sobreestimulación en el proceso metabólico de los lípidos provocando así, el acumulamiento de triglicéridos.

Por otra parte, con respecto a las ratas hembra, es posible notar que los glúcidos siguen la misma tendencia que las ratas macho corroborando las teorías antes mencionadas. Sin embargo, se denota que el edulcorante glucosa presenta una LMA menor respecto a la del grupo control. Dicha longitud es un indicio de la cantidad de lípidos en el tejido, por lo que tendría que ser alto al mostrar una masa de tejido adiposo alta; por tanto, se tendrá que indagar más en este parámetro y realizar más investigación al respecto.

**Tabla 20.** Comparación de la longitud mayor adipocitaria y masa de tejido adiposo retroperitoneal con respecto a los niveles séricos de triglicéridos para ratas hembra

Determinación Edulcorante	Longitud mayor adipocitaria (LMA)	Masa del tejido adiposo retroperitoneal	Niveles séricos de triglicéridos (Mendoza-Pérez, 2017)
Sacarosa	↑	↑	↑
Glucosa	↓	↑	↑
Fructosa	↑	↓	↑

↑ Grupo de ratas que presentaron un nivel mayor al del grupo control

↓ Grupo de ratas que presentaron un nivel menor al del grupo control

#### 4.2.5. Determinación de grelina, leptina, insulina y glucagón

##### 4.2.5.1. Niveles séricos de grelina

De acuerdo con lo reportado por Mendoza-Pérez (2017) no existió diferencia estadísticamente significativa con referencia al nivel expresado de grelina y los edulcorantes asociados, debido a que todas las ratas tenían el mismo tiempo de ayuno antes de su sacrificio.

##### 4.2.5.2. Niveles séricos de leptina

Por otra parte, se realizó el análisis de los niveles séricos de leptina los cuales se han asociado directamente con la cantidad de tejido adiposo retroperitoneal.

Para esto, se realizó una tabla comparativa donde se muestran los resultados de los niveles séricos de leptina reportados por Mendoza-Pérez (2017) junto con la longitud mayor adipocitaria y la masa de tejido adiposo retroperitoneal obtenidas durante esta investigación. Esta comparación se observa en las **Tablas 21 y 22.**

Como se puede observar en la **Tabla 21** en cuestión de lo analizado con las ratas macho el primer edulcorante hipocalórico fue el aspartame, el cual presentó valores de niveles séricos de leptina y masa de tejido adiposo retroperitoneal menores con

respecto al grupo control; sin embargo, la longitud mayor adipocitaria mostró valores superiores respecto al mismo.

**Tabla 21.** Comparación de la longitud mayor adipocitaria y masa de tejido adiposo retroperitoneal con respecto a los niveles séricos de leptina para ratas macho

Determinación Edulcorante	<i>Longitud mayor adipocitaria</i>	<i>Niveles séricos de leptina (Mendoza-Pérez, 2017)</i>	<i>Masa de tejido adiposo retroperitoneal</i>
Aspartame	↑	↓	↓
Estevia	↓	↑	↓

↑ Grupo de ratas que presentaron un nivel mayor al del grupo control

↓ Grupo de ratas que presentaron un nivel menor al del grupo control

**Tabla 22.** Comparación de la longitud mayor adipocitaria y masa de tejido adiposo retroperitoneal con respecto a los niveles séricos de leptina para ratas hembra

Determinación Edulcorante	<i>Longitud mayor adipocitaria</i>	<i>Niveles séricos de leptina (Mendoza-Pérez, 2017)</i>	<i>Masa de tejido adiposo retroperitoneal</i>
Sucralosa	↓	↑	↓
Sacarosa	↑	↑	↑

↑ Grupo de ratas que presentaron un nivel mayor al del grupo control

↓ Grupo de ratas que presentaron un nivel menor al del grupo control

En este sentido es importante saber que la longitud adipocitaria es un factor relativo, puesto que en tejido adiposo el hecho de que exista una menor cantidad de este no es debido a una proporción de masa menor, ya que la pérdida de masa disminuye su tamaño más no su número de células (Stevens y col., 2003). Por tanto, se pueden tener adipocitos con un tamaño relativamente grande con valores de masa de tejido adiposo baja.

Por otro lado, el que se hayan obtenido valores de leptina y masa de tejido adiposo retroperitoneal bajos con respecto al control es atribuible a que los niveles circulantes de dicha hormona son proporcionales a la cantidad de tejido adiposo en el organismo

(Rosado y col., 2006). Igualmente, se evaluó el edulcorante estevia el cual mostró características diferentes a las observadas en aspartame, ya que la longitud adipocitaria y la masa de tejido adiposo retroperitoneal presentaron valores bajos con respecto al grupo control y los niveles séricos de leptina fueron mayores con respecto al control.

Esto se puede deber a que la leptina contribuyó con el aumento de la saciedad y, por tanto, el consumo de alimento fue menor, lo que indujo una longitud adipocitaria junto con una masa de tejido bajas ya que, de acuerdo con Mendoza-Pérez (2017), “los niveles de leptina dirigen al sistema nervioso central para ajustar la ingesta de alimentos. La leptina actúa directamente ejerciendo efectos reguladores del apetito”.

Por otra parte, se puede observar que para el caso de las ratas hembra el primer edulcorante evaluado fue la sucralosa, presentando valores inferiores con respecto del grupo control en la longitud mayor adipocitaria y la masa de tejido adiposo retroperitoneal, en cambio, los niveles de leptina séricos fueron mayores con respecto al grupo control, en este caso de acuerdo con Sánchez (2005) “la leptina es una proteína segregada por el tejido adiposo, que regula el apetito y el gasto energético”.

El segundo edulcorante correspondió a la sacarosa, el cual mostró niveles de longitud mayor adipocitaria, niveles séricos de leptina y masa de tejido adiposo retroperitoneal altos con respecto al grupo control.

Este comportamiento puede ser considerado el idóneo ya que, de acuerdo con Acosta (2012), “Debido a un exceso de grasa, el tejido adiposo segrega cantidades más elevadas de adipocinas, creando un ambiente inflamatorio con incremento en las concentraciones de leptina”. Esto también está de acuerdo con el estudio realizado por Castellanos y col. (2015), donde se hace mención acerca de que el consumo crónico de sacarosa durante 24 semanas da origen a niveles altos de triglicéridos, adiponectina y leptina.

### 4.2.5.3. Niveles séricos de insulina

Por otra parte, se cuantificaron los niveles séricos de insulina en las ratas de estudio. De acuerdo con Mendivil y Sierra (2005) “los principales efectos agudos de la insulina sobre los tejidos blanco son:

- Estímulo de la síntesis de glucógeno e inhibición de su degradación en hígado y músculo.
- Inhibición de la gluconeogénesis hepática.
- Estímulo de la captación y almacenamiento de grasas por el tejido adiposo.
- Inhibición de la lipólisis en tejido adiposo (por inhibición de la lipasa adipolítica u hormonosensible).

Dicho esto, se le dará especial atención en este apartado al análisis del tejido hepático y al tejido adiposo retroperitoneal. Para esto, se realizó la comparación de los edulcorantes que afectaron de mayor manera al tejido hepático (**Figuras A.4.2 y A.4.3**) y los que indujeron la mayor longitud adipocitaria (**Figura A.4.6**) en contraste con aquellos edulcorantes que presentaron los mayores niveles de insulina. Dicha comparación se puede observar en las **Tablas 23 y 24** con respecto de cada sexo.

**Tabla 23.** Comparación del daño en tejido hepático y adiposo con respecto a los niveles séricos de insulina para ratas macho

Determinación Edulcorante	<i>Degeneración vacuolar</i>	<i>Fibrosis/Inflamación</i>	<i>Longitud mayor adipocitaria</i>	<i>Niveles séricos de insulina (Mendoza- Pérez, 2017)</i>
NS	NA	NA	NA	NA

NS. No existió diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo control

NA. No aplica

Como se puede observar en la **Tabla 23** con respecto a las ratas macho, ningún edulcorante presentó influencia alguna en la estimulación de insulina, ya que no hubo

diferencias estadísticamente significativas con respecto del grupo control; por tanto, no se detectó la presencia de daño en los tejidos analizados.

Por otra parte, en la **Tabla 24** se muestran los resultados para las ratas hembra. El primer edulcorante hipocalórico analizado fue la mezcla, el cual para las dos características analizadas de tejido hepático junto con los niveles séricos de insulina, se obtuvieron niveles más altos con respecto al grupo control. Sin embargo, respecto de la longitud adipocitaria, se presentaron niveles por debajo del observado para el grupo control.

**Tabla 24.** Comparación del daño en tejido hepático y adiposo con respecto a los niveles séricos de insulina para ratas hembra

Determinación Edulcorante	<i>Degeneración vacuolar</i>	<i>Fibrosis/Inflamación</i>	<i>Longitud mayor adipocitaria</i>	<i>Niveles séricos de insulina (Mendoza-Pérez, 2017)</i>
Mezcla	↑	↑	↓	↑
Estevia	↑	↓	↑	↑
Glucosa	↑	↓	↓	↑
Sacarosa	↑	↑	↑	↑

↑ Grupo de ratas que presentaron un nivel mayor al del grupo control

↓ Grupo de ratas que presentaron un nivel menor al del grupo control

El siguiente edulcorante corresponde a estevia, donde se obtuvieron para el caso de degeneración vacuolar, longitud mayor adipocitaria y niveles séricos de insulina con valores superiores con respecto de los del grupo control, encontrándose que solamente la presencia de fibrosis e inflamación mostraron valores bajos con respecto al grupo control. Para los edulcorantes calóricos, en glucosa se encontró que el parámetro de degeneración vacuolar y los niveles séricos de insulina tuvieron valores por encima del grupo control y que fibrosis/inflamación y longitud mayor adipocitaria obtuvieron niveles bajos con respecto del grupo control. Finalmente, para la sacarosa

se encontraron que todos los parámetros analizados tuvieron un nivel mayor con respecto del grupo control.

Con respecto a las ratas hembra, se observa que el aumento en la concentración de insulina es debido principalmente al consumo de carbohidratos calóricos como la sacarosa y la glucosa, ya que de acuerdo con Peña y col. (2004) “la insulina es el compuesto de mayor influencia en el metabolismo de los carbohidratos, porque principalmente permite la entrada de glucosa a las células”.

De hecho, no existen valores anormales que propicien la teoría de que las ratas que consumieron estos edulcorantes presenten diabetes debido a la regulación por la insulina, por lo que el daño hepático generado no se debe al consumo de estos carbohidratos sino a factores externos a la experimentación. De igual forma, el consumo de aspartame (incluido en la solución mezcla) puede incrementar rápidamente la concentración de glucosa en sangre e inducir intolerancia a este glúcido; esto se ha atribuido a los cambios funcionales en la microbiota (Janssens y col., 2017).

Por otro lado, debido a que la estimulación de la insulina no muestra resultados anormales en cuestión de niveles séricos de glucosa, no se atribuyen los cambios morfológicos en hígado al consumo de la mezcla de edulcorantes.

#### **4.2.5.4. Niveles séricos de glucagón**

Con relación a la hormona cuantificada glucagón no existieron diferencias entre los grupos de ratas macho y hembra con los edulcorantes analizados. De acuerdo con Mendoza-Pérez (2017) “en estado de ayuno los niveles de glucosa disminuyen, lo cual promueve la secreción de glucagón”. Al presentar todas las ratas niveles muy similares de glucosa al momento del ayuno era de esperarse que “los niveles de glucagón fuesen similares entre sí”. Igualmente,

la secreción de glucagón es regulada fundamentalmente por los niveles de glucosa en plasma, ya que controla la producción de la misma (UCSF, 2018).

### 4.3. Discusión final

En el **Anexo 3 (Tabla A.3.2.)** se presenta un ejemplo de los dos especímenes extremos de cada lote, considerando el que tuvo la menor masa corporal y el que tuvo la mayor masa corporal, separándolos tanto por sexo como por edulcorante, iniciando con los especímenes de los dos lotes control (dietas Teklad Global y AIN93M).

En cada ejemplo se incluye la información proporcionada por la investigación previa de Mendoza-Pérez (2017), referente a la cuantificación de la hormona incretina, *GIP* en inglés, a la cuantificación de los niveles séricos de colesterol, a la cuantificación de triglicéridos en plasma sanguíneo y a la cuantificación de las hormonas leptina, grelina, insulina y glucagón. Esto se compara con cada tejido analizado considerando la relación de masa del órgano:masa corporal y el daño histológico en los distintos órganos del espécimen en estudio.

De acuerdo con la información, se obtuvo que la relación entre la masa corporal y la concentración de lípidos en el tejido adiposo no están directamente asociados, que la regulación del apetito se ve influenciada por más factores ajenos a esta investigación y que los daños histológicos dependen de diversos factores como, por ejemplo, la cantidad de lípidos en plasma sanguíneo, factores genéticos y la dieta consumida. A continuación, se explica más a detalle.

Con relación al grupo de ratas control que bebieron agua y consumieron las dietas Teklad y AIN93M se observó que el comportamiento era similar en cuestión de la longitud mayor adipocitaria y la masa corporal, es decir, a mayor masa corporal la longitud mayor adipocitaria incrementaba. Sin embargo, fue posible notar que en el caso de las ratas hembra que consumieron la dieta Teklad mostraban un comportamiento diferente al antes mencionado. Esto se puede explicar con base en

los demás parámetros analizados: se observó que la rata con menor masa corporal presentaba un porcentaje menor de tejido adiposo (0.53%) con respecto a la de mayor masa corporal (2.81%) aunque la longitud adipocitaria fuera mayor en la rata más flaca. De igual forma, la cantidad de triglicéridos fue mayor en la rata con menor masa corporal; esto explica que, al haber un porcentaje menor de tejido adiposo retroperitoneal y altos niveles de triglicéridos, la cantidad de lípidos se concentra en el tejido adiposo y la longitud adipocitaria aumenta generando mayor daño histológico en los diversos órganos; esto se comprueba con el aumento de pigmento de desgaste lipofuscina, mayor degeneración vacuolar y mayor daño glomerular en dicha rata. Además, fue posible notar que la rata macho y hembra con la menor masa corporal que consumieron la dieta AIN93M presentaron el mayor porcentaje de la relación masa corporal:órgano (riñón para ratas macho y riñón e hígado para ratas hembra); de igual forma al mostrar dicho comportamiento, el daño hepático y renal fue mayor. Es importante mencionar que las ratas macho presentaron los mayores niveles de colesterol y las ratas hembras los mayores niveles de triglicéridos con respecto a la rata con mayor masa corporal según sea el caso. Esto se relaciona con lo mencionado por Cofan (2014) donde establece que “las tasas específicas de síntesis de colesterol, tanto el total corporal como en los órganos, varía en función de la presencia de colesterol y otros lípidos de la dieta. La grasa de la dieta por sí sola no afecta la síntesis hepática y corporal del colesterol, pero puede inducir la síntesis de colesterol intestinal” generando así posibles daños en los tejidos. Dicho esto, es posible mencionar que debido a la mayor presencia de lípidos (colesterol y triglicéridos) y de porcentaje en la relación masa:órgano en las ratas más flacas que consumieron la dieta AIN93M existe mayor presencia del daño hepático y renal.

Por otra parte, de acuerdo con los edulcorantes calóricos fue posible observar que para el caso de la longitud mayor adipocitaria con respecto a la masa corporal, las ratas que consumieron glucosa y sacarosa presentan una tendencia diferente a la presentada por las ratas que bebieron fructosa. Es decir, el comportamiento normal que se esperaría es que si se presenta mayor masa corporal por ende habría una mayor longitud adipocitaria (mostrada por las ratas que bebieron fructosa) sin

embargo, fue posible notar que en ambos casos (ratas que bebieron glucosa y sacarosa) mostraron que la rata más flaca presentaba la mayor longitud adipocitaria. Esto es posible explicar debido a dos factores que influyen en dichos casos. En el primer caso de las ratas que bebieron glucosa se encontró que el porcentaje de la relación masa:órgano del tejido retroperitoneal era menor en las ratas más flacas, es decir, los lípidos sintetizados se concentran de mayor manera en este tejido y, por tanto, la longitud mayor adipocitaria aumenta. En el segundo caso para las ratas que bebieron sacarosa es posible notar que las ratas con mayor longitud adipocitaria presentaron los menores niveles de *GIP* y viceversa; esto indicaría que la regulación del apetito según sea el caso se ve directamente influenciada, por lo que al haber mayor cantidad de la hormona *GIP*, la saciedad aumenta y, por tanto, el consumo de alimento es menor, influyendo en que la longitud adipocitaria sea menor.

Finalmente, con respecto a los edulcorantes hipocalóricos se observó que existió una tendencia muy similar a las ya mencionadas (a mayor cantidad de lípidos, el daño celular se ve afectado de mayor manera y es posible, que la distribución de dichos lípidos sea en todo el cuerpo y no solamente en el tejido adiposo retroperitoneal). Esto se observó en los edulcorantes acesulfame de potasio, aspartame y estevia. Sin embargo, es importante destacar algunos casos específicos como el que mostraron las ratas que consumieron la mezcla comercial de aspartame con acesulfame de potasio. En ellas se observó que las ratas con mayor masa corporal mostraron la menor longitud adipocitaria y la menor cantidad de lípidos presentes en plasma sanguíneo y además, mostraron el mayor daño glomerular. Esto se puede explicar debido a que según Arévalo (s.f.) los riñones participan en un proceso de soporte vascular y de filtración glomerular. De igual forma, participan en el proceso de regulación del flujo sanguíneo dentro del glomérulo; por tanto, es posible que las causas del daño mostrado en este tejido sean externas a esta investigación.

De igual forma, se pudo notar que la rata hembra con menor masa corporal que consumió el edulcorante sacarina mostró la mayor longitud adipocitaria, los mayores niveles de colesterol y triglicéridos y el mayor daño glomerular. Esto se debe a que el

porcentaje de tejido retroperitoneal fue menor (0.73%) en comparación con la rata que tuvo la mayor masa corporal (1.28%), por lo que la concentración de dichos lípidos fue en el tejido adiposo retroperitoneal. Es importante mencionar que este mismo comportamiento se observó en cuatro de las ratas que consumieron el edulcorante sucralosa por lo que es probable que el consumo de este edulcorante provoque un acumulamiento de lípidos en el tejido adiposo pero, sin afectar a la masa corporal mostrada.

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

Con base en el objetivo planteado: Analizar el efecto a nivel celular y metabólico de la ingesta de edulcorantes calóricos (glucosa, fructosa y sacarosa) e hipocalóricos (acesulfame de K, aspartame, estevia, mezcla comercial de aspartame y acesulfame de potasio, sacarina y sucralosa) empleando estudios histológicos y bioquímicos de diferentes tejidos de 176 ratas hembra y macho de la cepa Wistar recién destetadas después de 120 días de experimentación, así como la hipótesis establecida: El consumo crónico de edulcorantes calóricos e hipocalóricos provoca daños histológicos en los tejidos cardíaco, hepático, renal y adiposo en ratas Wistar macho y hembra que bebieron agua con edulcorantes durante 120 días de experimentación después del destete, de los resultados obtenidos y con el análisis realizado, pueden derivarse las siguientes conclusiones:

#### *Corazón*

- No se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los factores analizados para lipofuscina.
- Los niveles séricos de colesterol expresado estuvieron relacionados con la presencia de lipofuscina.
- El edulcorante fructosa en ratas macho presentó un mayor nivel sérico de colesterol promoviendo así el daño por lipofuscina.
- Los edulcorantes fructosa y sucralosa presentaron los mayores niveles de colesterol en ratas hembra induciendo un daño en tejido cardíaco.
- No existió indicio de presencia de necrosis a nivel miocardio en ninguno de los animales en estudio.

### *Hígado*

- Existió una diferencia estadísticamente significativa entre todos los lotes en estudio respecto de la degeneración vacuolar entre las ratas macho y hembra.
- Las ratas hembra presentaron mayor degeneración vacuolar con respecto de las ratas macho.
- No existió ninguna diferencia estadísticamente significativa para el daño por fibrosis e inflamación.
- Los edulcorantes mezcla, estevia, glucosa y sacarosa estimularon la mayor cantidad de insulina en plasma sanguíneo promoviendo así un daño en tejido hepático (degeneración vacuolar).
- El edulcorante fructosa mostró en ratas macho un nivel de colesterol alto lo que generó presencia de inflamación y fibrosis en tejido hepático.
- Las ratas hembra mostraron niveles altos de colesterol para los edulcorantes mezcla, sucralosa y fructosa dando origen a un daño en tejido hepático.

### *Riñones*

- No existieron diferencias estadísticamente significativas para el daño glomerular en ninguno de los factores estudiados.
- El nivel de daño que se presentó para los grupos de edulcorantes en ratas macho no fue el mismo que en ratas hembra con respecto a la degeneración celular tubular

### *Tejido adiposo retroperitoneal*

- Existieron diferencias estadísticamente significativas en la longitud adipocitaria para el factor sexo y la interacción de ambos factores.
- Las ratas macho presentaron una mayor longitud adipocitaria (86.40  $\mu\text{m}$ ) con respecto a las ratas hembra (79.46  $\mu\text{m}$ )
- Con relación a las ratas hembra, la fructosa fue el edulcorante que generó la mayor longitud adipocitaria.

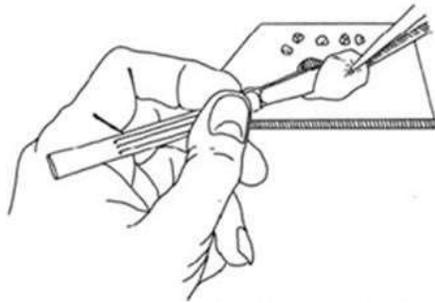
- El edulcorante calórico fructosa presentó el mayor nivel de péptido insulínico dependiente de glucosa (*GIP*) induciendo una longitud adipocitaria menor para las ratas macho.
- Los edulcorantes aspartame y sucralosa, así como el grupo que ingirió la dieta control AIN93M, rica en carbohidratos y pobre en proteínas, presentaron los menores niveles de péptido insulínico dependiente de glucosa (*GIP*) generando que la longitud adipocitaria fuera mayor.
- Los edulcorantes fructosa y sacarosa en ratas macho y hembra presentaron los mayores niveles séricos de triglicéridos y, a su vez, presentaron la mayor longitud adipocitaria.
- La cantidad de lípidos en tejido adiposo retroperitoneal no está directamente relacionada con la presencia de leptina.

## **5.2. Recomendaciones**

- ✓ Se recomienda que el tiempo de experimentación sea igual o mayor a 6 meses para corroborar la posible presencia del compuesto lipofuscina en el miocardio
- ✓ Se recomienda la aplicación de estudios bioquímicos que intervengan de manera más directa en las funciones renales.
- ✓ Se recomienda utilizar la combinación de la dieta AIN 93M con los edulcorantes utilizados con la finalidad de observar posibles efectos en el síndrome metabólico y su influencia en el daño histológico.

## ANEXOS

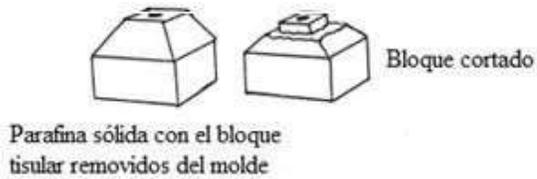
**Anexo 1.** Esquemas relacionados con la metodología desarrollada (Bacha y Bacha, 2012)



**Figura A.1.1.** Realización de corte histológico



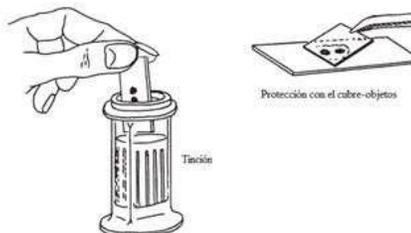
**Figura A.1.2.** Técnica de inclusión en parafina



**Figura A.1.3.** Corte de los bloques



**Figura A.1.4.** Baño de flotación



**Figura A.1.5.** Tinción y protección

## Anexo 2. Acervo fotográfico



**Figura A.2.1.** Rata número 123 en cámara de CO<sub>2</sub> para su eutanasia



**Figura A.2.2.** Separación de órganos después de la eutanasia



**Figura A.2.3.** Foto-microscopio utilizado en la FMVZ-UNAM



**Figura A.2.4.** Cortes de órganos distribuidos en un cassette



**Figura A.2.5.** Sistema automático de infiltración de tejidos marca Leica modelo TP1020



**Figura A.2.6.** Sistema modular de inclusión de tejidos marca Leica Biosystems® modelo EG1150 (A)



**Figura A.2.7.** Microtomo rotatorio de marca Leica Biosystems® modelo RM2125 RTS



**Figura A.2.8.** Baño de flotación marca Leica Biosystems® modelo HI1210



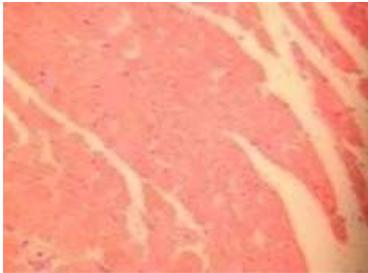
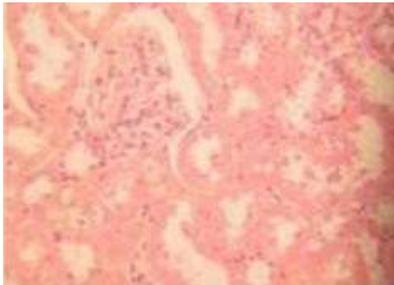
**Figura A.2.9.** Sistema modular de inclusión de tejidos marca Leica Biosystems® modelo EG1150 (B)



**Figura A.2.10.** Proceso de tinción hematoxilina-eosina (H-E)

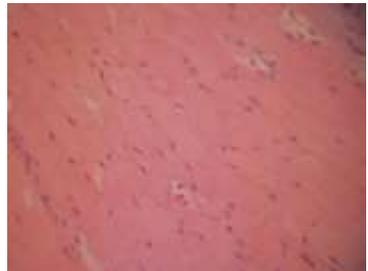
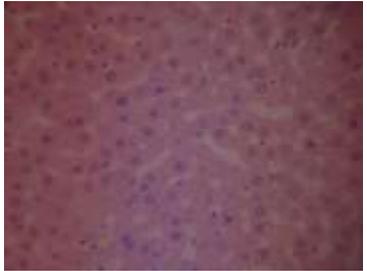
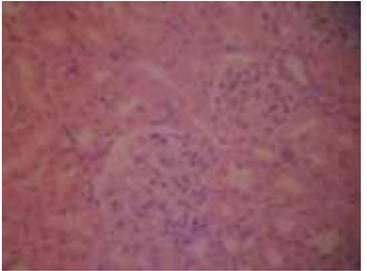
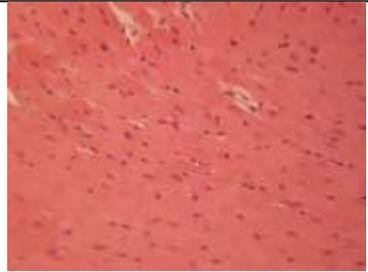
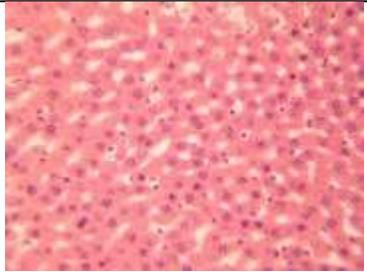
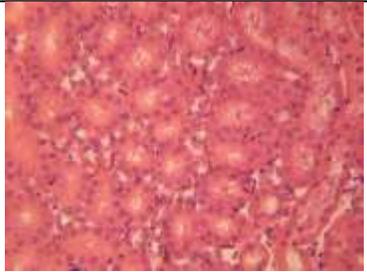
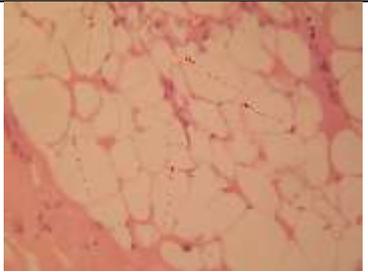
**Anexo 3.** Tablas de resultados

**Tabla A.3.1.** Ejemplificación de la asignación de daño para cada tejido

Número de identificación: <b>3</b> Edulcorante: <b>Control Teklad</b> Sexo: <b>Macho</b>	Observaciones		
<b>Órgano</b>	<b>Integridad celular</b>		<b>Micrografía del tejido</b>
Corazón	Lipofuscina	Necrosis	
	+	-	
Hígado	Degeneración vacuolar	Fibrosis e inflamación	
	-	-	
Riñones	Daño glomerular	Deg. celular tubular	
	+	-	
Tejido adiposo retroperitoneal	Longitud mayor adipocitaria		
	73.40 μm		

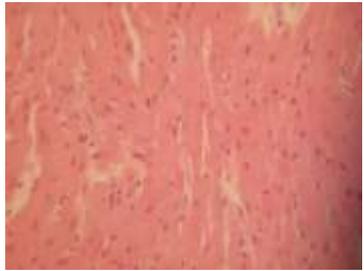
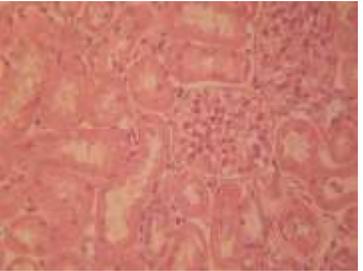
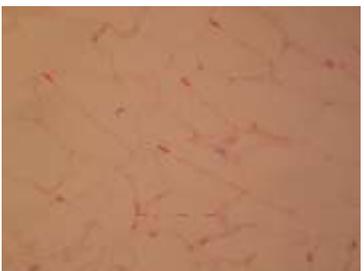
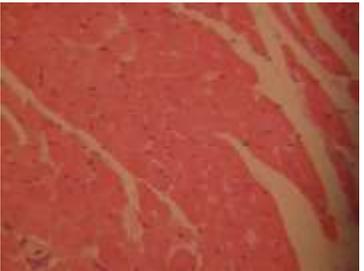
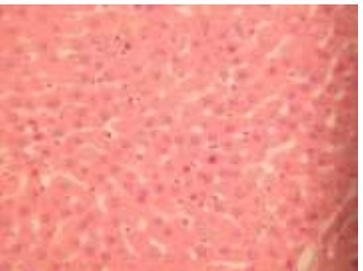
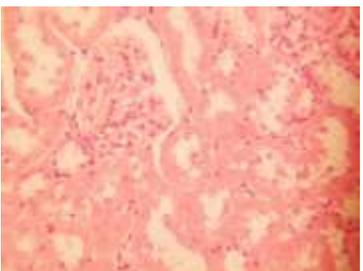
**Tabla A.3.2.** Datos experimentales de los especímenes extremos de cada lote en estudio

**Tabla A.3.2.a. Dieta Teklad Global, control machos**

Número de identificación: 21 Edulcorante: <b>0</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 320.1 g Masa órgano: 1220 mg C, 8860 mg H, 1040 mg R, 5610 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.38% C,2.77% H, 0.32% R,1.75% TR GIP: 153.67 pg/mL Colesterol: 51.4 mg/dL Triglicéridos: 72.7 mg/dL Leptina:3326 pg/mL Grelina: 9.0 pg/mL Insulina: 70.17 pg/mL Glucagón: 46.83 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Ausente</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Ausente</b>	<b>Daño glomerular: Moderado</b> <b>Degeneración celular tubular: Ausente</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 34.32 µm</b>
Número de identificación: 57 Edulcorante: <b>0</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 390.4 g Masa órgano: 1260 mg C, 11430 mg H, 1117 mg R, 4500 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.32% C,2.93% H,0.28% R,1.15% TR GIP: 103.33 pg/mL Colesterol: 50.16 mg/dL Triglicéridos: 62.71 mg/dL Leptina: 3327 pg/mL Grelina:9.67 pg/mL Insulina: 270.17 pg/mL Glucagón:51.17 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Ausente</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Ausente</b>	<b>Daño glomerular: Ausente</b> <b>Degeneración celular tubular: Ausente</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 101.56 µm</b>

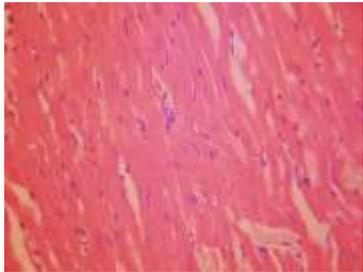
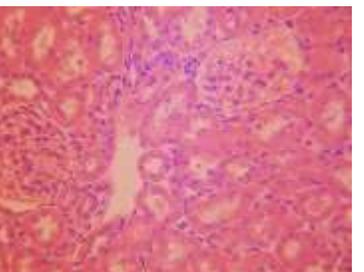
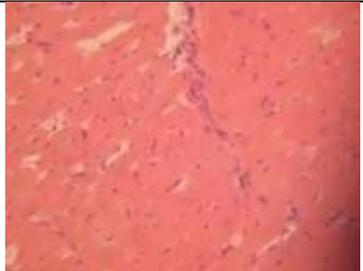
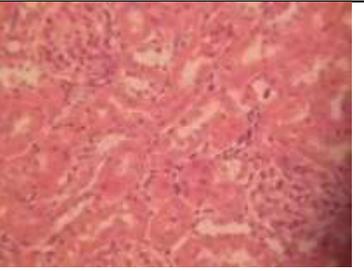
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñón, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.b. Dieta Teklad Global, control hembras**

Número de identificación: 128 Edulcorante: <b>0</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 111.5 g Masa órgano: 600 mg C, 4190 mg H, 520 mg R, 590 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.54% C,3.76% H, 0.47% R, 0.53% TR GIP: 2017.33 pg/mL Colesterol: 69.69 mg/dL Triglicéridos: 113.79 mg/dL Leptina: 967.17 pg/mL Grelina: 7.33 pg/mL Insulina: 55.83 pg/mL Glucagón: 47.33 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Moderado</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Moderado</b> <b>Degeneración celular tubular: Leve</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 95.58 µm</b>
Número de identificación: 85 Edulcorante: <b>0</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 194.1 g Masa órgano: 820 mg C,6100 mg H, 680 mg R,5470 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.42% C, 3.14% H, 0.35% R, 2.81%TR GIP: 149.0 pg/mL Colesterol: 54.2 mg/dL Triglicéridos: 82.65 mg/dL Leptina: 1941.17 pg/mL Grelina: 8.33 pg/mL Insulina: 89.67 pg/mL Glucagón: 46.0 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Ausente</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Ausente</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 87.63 µm</b>

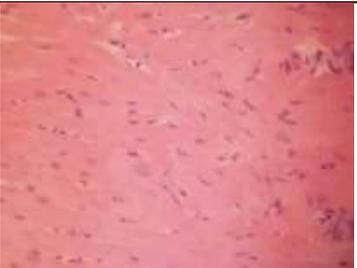
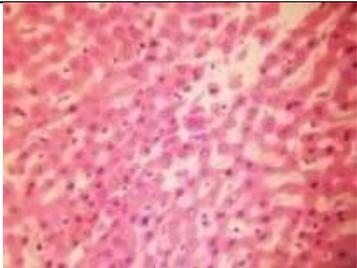
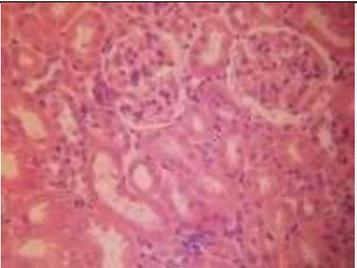
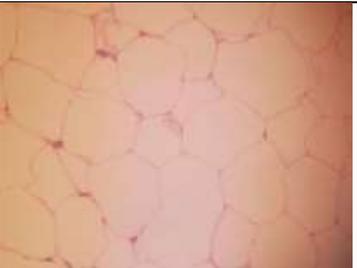
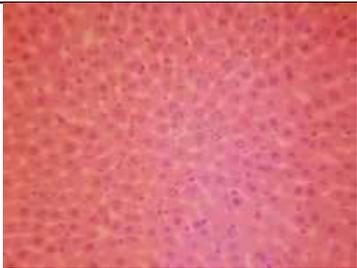
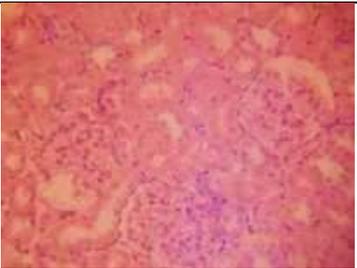
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñón, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.c. Dieta AIN 93M, control machos**

Número de identificación: 105 Edulcorante: <b>0</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 257.6 g Masa órgano: 1040 mg C, 8110 mg H, 1000 mg R, 3940 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.40% C, 3.15% H, 0.38% R, 1.53% TR GIP: 123.67 pg/mL Colesterol: 112.1 mg/dL Triglicéridos: 201.02 mg/dL Leptina: 3788.17 pg/mL Grelina: 8.67 pg/mL Insulina:147.0 pg/mL Glucagón:49.67 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Ausente</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 77.76 µm</b>
Número de identificación: 22 Edulcorante: <b>0</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 405.9 g Masa órgano: 1370 mg C, 10580 mg H, 1150 mg R, 7200 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.34% C, 2.60% H, 0.28 R, 1.77% TR GIP: 208.83 pg/mL Colesterol: 71.25 mg/dL Triglicéridos: 221.45 mg/dL Leptina: 3675.31 pg/mL Grelina: 13.0 pg/mL Insulina: 156.0 pg/mL Glucagón:51.83 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Ausente</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Ausente</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Ausente</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 105.37 µm</b>

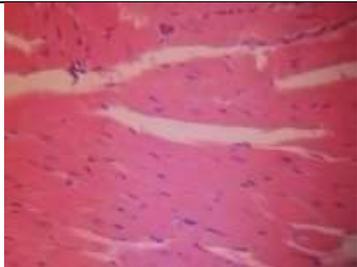
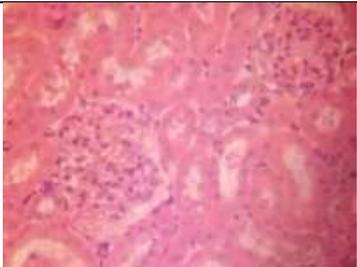
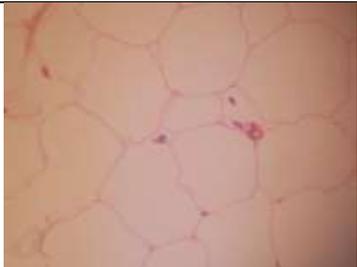
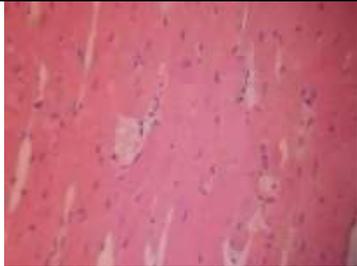
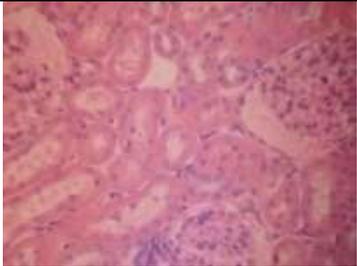
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñón, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.d. Dieta AIN 93M, control hembras**

Número de identificación: 165 Edulcorante: <b>0</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 140.8 g Masa órgano: 720 mg C, 5120 mg H, 650 mg R, 730 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.51% C, 3.64% H, 0.46% R, 0.52% TR GIP: 151.50 pg/mL Colesterol: 65.58 mg/dL Triglicéridos: 142.97 mg/dL Leptina: 1054.0 pg/mL Grelina: 8.0 pg/mL Insulina: 51.67 pg/mL Glucagón: 55.0 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Grave</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Grave</b>	<b>Daño glomerular: Moderado</b> <b>Degeneración celular tubular: Grave</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 78.69 µm</b>
Número de identificación: 35 Edulcorante: <b>0</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 222.6 g Masa órgano: 1030 mg C, 5610 mg H, 640 mg R, 3710 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.46% C, 2.52% H, 0.29% R, 1.67% TR GIP: 278.17 pg/mL Colesterol: 98.47 mg/dL Triglicéridos: 98.15 mg/dL Leptina: 2221.67 pg/mL Grelina: 8.17 pg/mL Insulina: 30.33 pg/mL Glucagón: 49.50 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Ausente</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Moderado</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Ausente</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Ausente</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 81.83 µm</b>

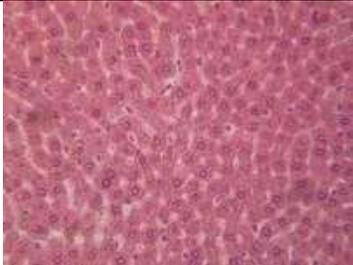
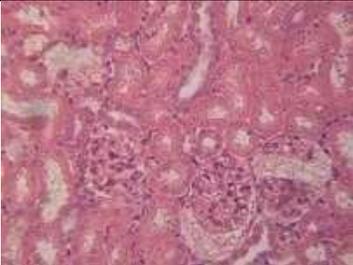
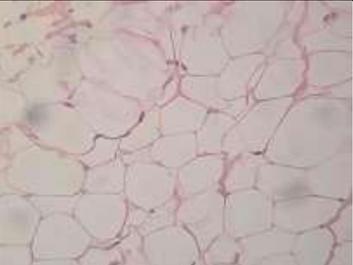
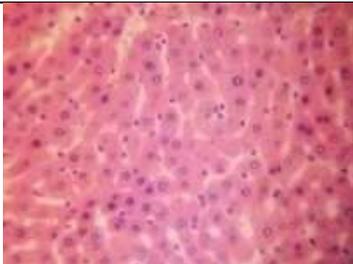
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñón, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.e. Dieta Teklad Global, agua con fructosa, machos**

Número de identificación: 149 Edulcorante: <b>Fructosa</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 301.7 g Masa órgano: 1250 mg C, 10030 mg H, 950 mg R, 2890 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.41% C, 3.32% H, 0.31% R, 0.96% TR GIP: 346.33 pg/mL Colesterol: 74.78 mg/dL Triglicéridos: 162.68 mg/dL Leptina: 1809.17 pg/mL Grelina: 8.67 pg/mL Insulina: 322.33 pg/mL Glucagón: 53.0 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Moderado</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 108.79 µm</b>
Número de identificación: 145 Edulcorante: <b>Fructosa</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 350.9 g Masa órgano: 1240 mg C, 10590 mg H, 1130 mg R, 6480 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.35% C, 3.01% H, 0.32% R, 1.85% TR GIP: 262.67 pg/mL Colesterol: 77.18 mg/dL Triglicéridos: 278.74 mg/dL Leptina: 4045.67 pg/mL Grelina: 9.67 pg/mL Insulina: 566.0 pg/mL Glucagón: 50.50 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Ausente</b>	<b>Daño glomerular: Grave</b> <b>Degeneración celular tubular: Grave</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 125.77 µm</b>

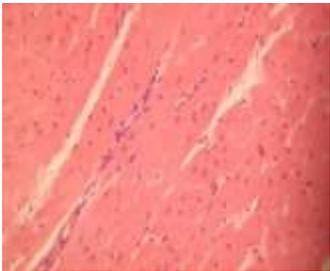
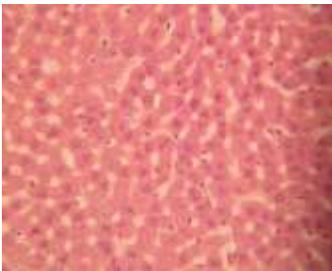
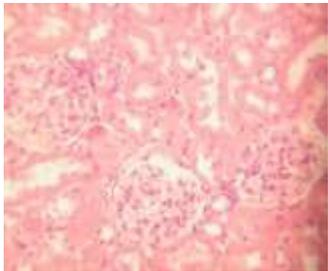
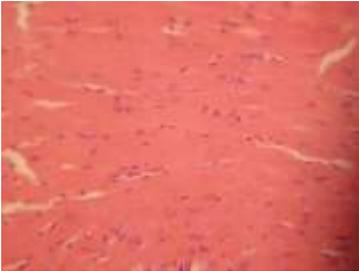
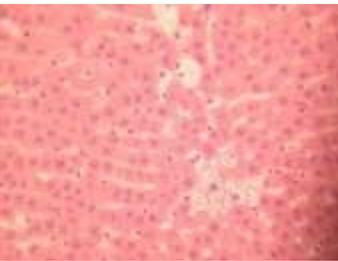
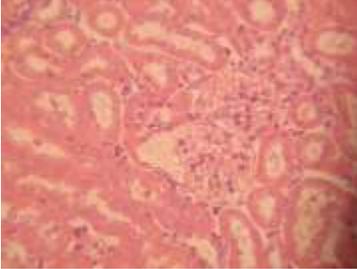
**m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñón, TR=tejido retroperitoneal**

**Tabla A.3.2.f. Dieta Teklad Global, agua con fructosa, hembras**

Número de identificación: 116 Edulcorante: <b>Fructosa</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 149.6 g Masa órgano: 790 mg C, 5640 mg H, 630 mg R, 870 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.0.52% C, 3.77% H, 0.42% R, 0.58% TR GIP: 157.50 pg/mL Colesterol: 155.50 mg/dL Triglicéridos: 221.99 mg/dL Leptina: 1407.33 pg/mL Grelina:12.67 pg/mL Insulina: 31.67 pg/mL Glucagón: 51.67 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Ausente</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 63.14 µm</b>
Número de identificación: 173 Edulcorante: <b>Fructosa</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 186.8 g Masa órgano: 800 mg C, 6630 mg H, 750 mg R, 1880 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.43% C, 3.55% H, 0.40% R, 1.0% TR GIP: 122.33 pg/mL Colesterol: 96.73 mg/dL Triglicéridos: 432.59 mg/dL Leptina:1473.33 pg/mL Grelina: 7.67 pg/mL Insulina:48.33 pg/mL Glucagón: 48.0 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Moderado</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Moderado</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 133.76 µm</b>

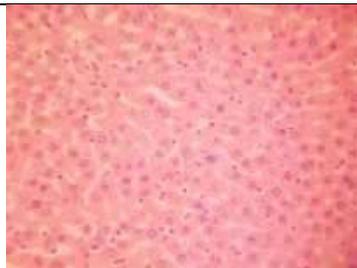
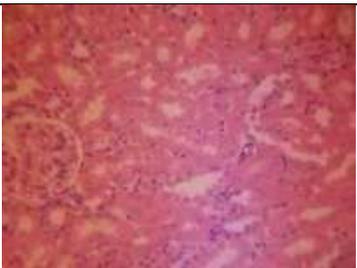
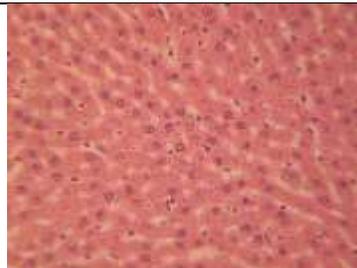
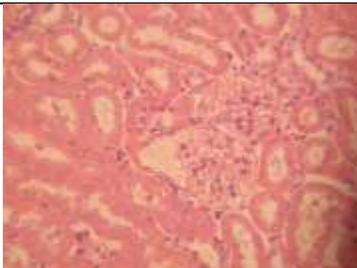
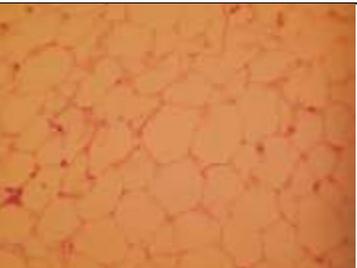
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñón, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.g. Dieta Teklad Global, agua con glucosa, machos**

Número de identificación: 05 Edulcorante: <b>Glucosa</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 296.3 g Masa órgano: 1210 mg C, 9200 mg H, 1340 mg R, 3410 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.40% C, 3.10% H, 0.45% R, 1.15% TR GIP: 177.67% pg/mL Colesterol: 77.15 mg/dL Triglicéridos: 299.01 mg/dL Leptina: 2576.0 pg/mL Grelina: 10.0 pg/mL Insulina: 164.83 pg/mL Glucagón: 64.0 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Moderado</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Leve</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 83.44 µm</b>
Número de identificación: 11 Edulcorante: <b>Glucosa</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 386.0 g Masa órgano: 1350 mg C, 11890 mg H, 1110 mg R, 7200 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.35% C, 3.08% H, 0.28% R, 1.86% TR GIP: 356.17 pg/mL Colesterol: 77.63 mg/dL Triglicéridos: 230.16 mg/dL Leptina: 3753.50 pg/mL Grelina: 10.67 pg/mL Insulina: 127.67 pg/mL Glucagón: 66.0 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Ausente</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Ausente</b>	<b>Daño glomerular: Grave</b> <b>Degeneración celular tubular: Leve</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 75.07 µm</b>

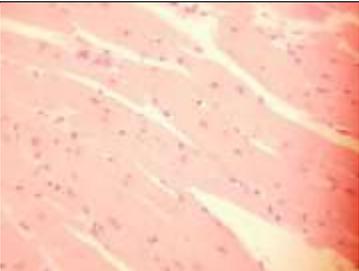
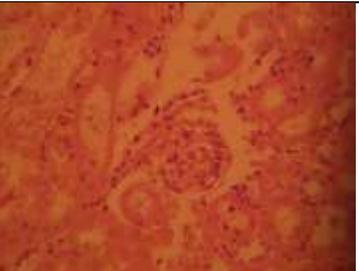
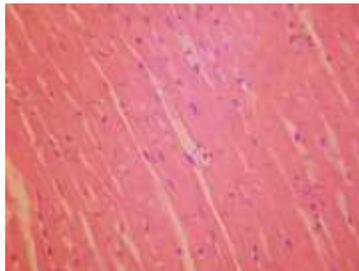
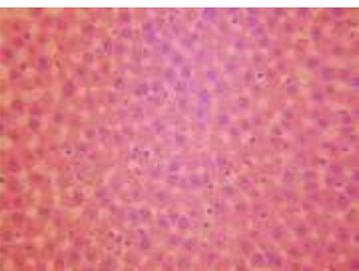
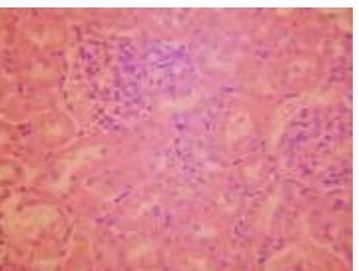
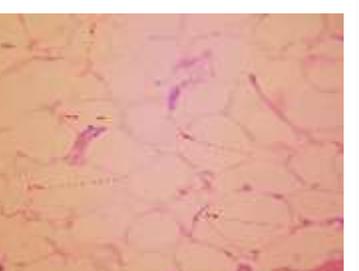
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñón, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.h. Dieta Teklad Global, agua con glucosa, hembras**

Número de identificación: 34 Edulcorante: <b>Glucosa</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 150.5 g Masa órgano: 390 mg C, 5970 mg H, 520 mg R, 2370 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.26% C, 3.97% H, 0.34% R, 1.57% TR GIP: 209.17 pg/mL Colesterol: 101.34 mg/dL Triglicéridos: 275.47 mg/dL Leptina: 1922.0 pg/mL Grelina: 8.67 pg/mL Insulina: 69.0 pg/mL Glucagón: 47.83 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Ausente</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Moderado</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Ausente</b>	<b>Daño glomerular: Ausente</b> <b>Degeneración celular tubular: Ausente</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 72.12 µm</b>
Número de identificación: 76 Edulcorante: <b>Glucosa</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 192.3 g Masa órgano: 990 mg C, 5920 mg H, 600 mg R, 3890 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.51% C, 3.08% H, 0.31% R, 2.02% TR GIP: 188.67 pg/mL Colesterol: 62.29 mg/dL Triglicéridos: 119.40 mg/dL Leptina: 1961.17 pg/mL Grelina: 8.33 pg/mL Insulina: 43.17 pg/mL Glucagón: 41.33 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Ausente</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Moderado</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 63.42 µm</b>

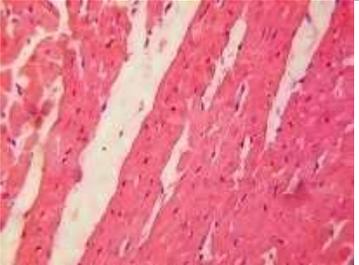
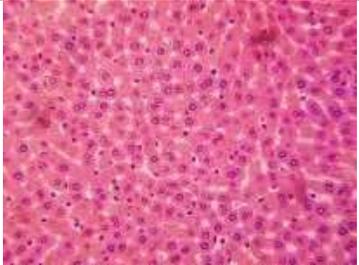
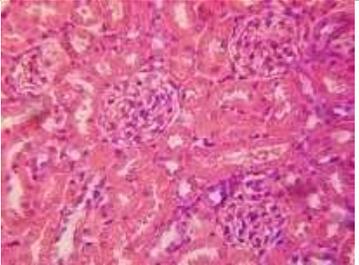
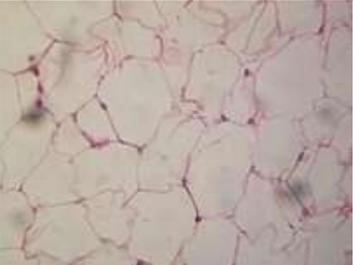
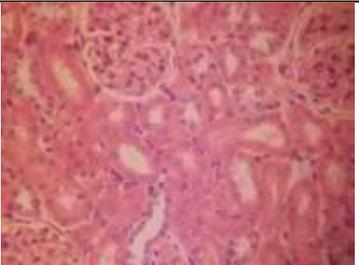
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñón, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.i. Dieta Teklad Global, agua con sacarosa, machos**

Número de identificación: 01 Edulcorante: <b>Sacarosa</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 279.6 g Masa órgano: 1230 mg C, 8580 mg H, 880 mg R, 4450 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.44% C, 3.07% H, 0.31% R, 1.59% TR GIP: 207.0 pg/mL Colesterol: 74.9 mg/dL Triglicéridos: 150.63 mg/dL Leptina: 3452.33 pg/mL Grelina: 10.33 pg/mL Insulina: 113.0 pg/mL Glucagón: 65.67 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Ausente</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Ausente</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Ausente</b>	<b>Daño glomerular: Ausente</b> <b>Degeneración celular tubular: Leve</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 76.98 µm</b>
Número de identificación: 101 Edulcorante: <b>Sacarosa</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 399.2 g Masa órgano: 1330 mg C, 11230 mg H, 1290 mg R, 5540 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.33% C, 2.81% H, 0.32% R, 1.39% TR GIP: 262.50 pg/mL Colesterol: 51.02 mg/dL Triglicéridos: 154.42 mg/dL Leptina: 1836.67 pg/mL Grelina: 10.33 pg/mL Insulina: 124.0 pg/mL Glucagón: 56.83 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Ausente</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Moderado</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 70.18 µm</b>

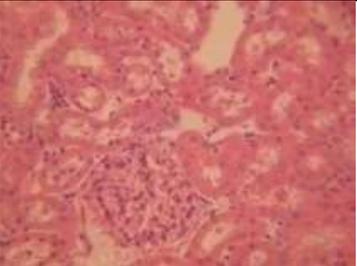
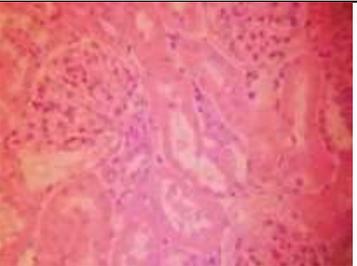
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñón, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.j. Dieta Teklad Global, agua con sacarosa, hembras**

Número de identificación: 119 Edulcorante: <b>Sacarosa</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 160.8 g Masa órgano: 840 mg C, 6470 mg H, 750 mg R, 1150 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.52% C, 4.02% H, 0.47% R, 0.71% TR GIP: 203.17 pg/mL Colesterol: 109.65 mg/dL Triglicéridos: 257.34 mg/dL Leptina: 1848.83 pg/mL Grelina: 7.33 pg/mL Insulina: 210.67 pg/mL Glucagón: 47.33 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	Lipofuscina: Leve Necrosis: Ausente	Degeneración vacuolar: Moderado Fibrosis/Inflamación: Leve	Daño glomerular: Moderado Degeneración celular tubular: Moderado	Longitud mayor adipocitaria: 78.69 µm
Número de identificación: 131 Edulcorante: <b>Sacarosa</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 215.2 g Masa órgano: 910 mg C, 7940 mg H, 1050 mg R, 6700 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.42% C, 3.69% H, 0.49% R, 3.11 TR GIP: 167.83 pg/mL Colesterol: 89.38 mg/dL Triglicéridos: 221.01 mg/dL Leptina: 3139.33 pg/mL Grelina: 7.0 pg/mL Insulina: 100.33 pg/mL Glucagón: 50.67 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	Lipofuscina: Leve Necrosis: Ausente	Degeneración vacuolar: Moderado Fibrosis/Inflamación: Leve	Daño glomerular: Grave Degeneración celular tubular: Grave	Longitud mayor adipocitaria: 86.69 µm

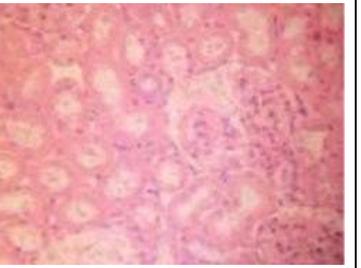
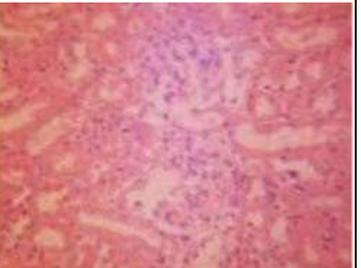
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñón, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.k. Dieta Teklad Global, agua con acesulfame de K, machos**

Número de identificación: 47 Edulcorante: <b>Acesulfame K</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 310.3 g Masa órgano: 1160 mg C, 8080 mg H, 980 mg R, 3500 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.37% C, 2.6% H, 0.32% R, 1.13% TR GIP: 222.50 pg/mL Colesterol: 52.95 mg/dL Triglicéridos: 70.75 mg/dL Leptina: 2964.0 pg/mL Grelina: 9.67 pg/mL Insulina: 142.50 pg/mL Glucagón: 51.83 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Ausente</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Ausente</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Ausente</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 101.15 µm</b>
Número de identificación: 144 Edulcorante: <b>Acesulfame K</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 382.9 g Masa órgano: 1210 mg C, 9980 mg H, 1150 mg R, 6210 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.32% C, 2.6% H, 0.30 R, 1.62 TR GIP: 76.0 pg/mL Colesterol: 97.91 mg/dL Triglicéridos: 87.00 mg/dL Leptina: 2646.0 pg/mL Grelina: 7.33 pg/mL Insulina: 261.0 pg/mL Glucagón: 46.67 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Ausente</b>	<b>Degeneración vacuolar: Moderado</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Moderado</b> <b>Degeneración celular tubular: Grave</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 98.74 µm</b>

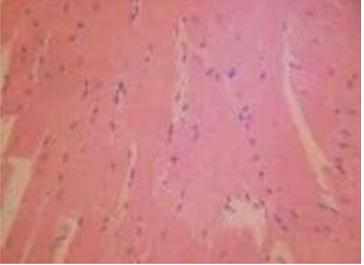
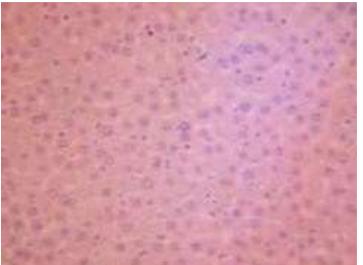
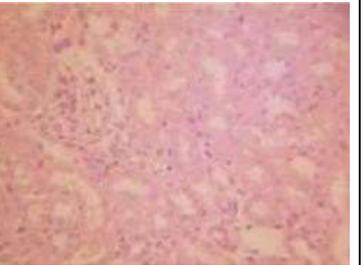
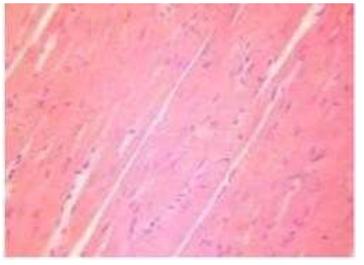
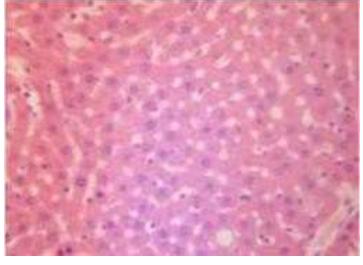
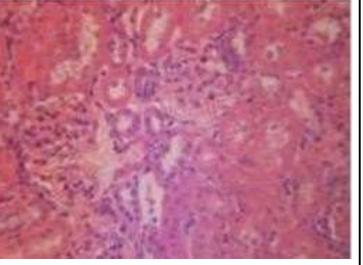
**m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñones, TR=tejido retroperitoneal**

**Tabla A.3.2.I. Dieta Teklad Global, agua con acesulfame de K, hembras**

Número de identificación: 167 Edulcorante: <b>Acesulfame K</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 160.0 g Masa órgano: 900 mg C, 6220 mg H, 770 mg R, 1020 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.29% C, 2.0% H, 0.25% R, 0.33% TR GIP: 258.33 pg/mL Colesterol: 82.64 mg/dL Triglicéridos: 75.54 mg/dL Leptina: 1352.17 pg/mL Grelina: 9.00 pg/mL Insulina: 38.50 pg/mL Glucagón: 53.00 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Grave</b> <b>Degeneración celular tubular: Grave</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 81.51 µm</b>
Número de identificación: 39 Edulcorante: <b>Acesulfame K</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 211.1 g Masa órgano: 960 mg C, 6510 mg H, 720 mg R, 1770 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.45% C, 3.08% H, 0.34% R, 0.84% TR GIP: 210.33 pg/mL Colesterol: 86.44 mg/dL Triglicéridos: 125.89 mg/dL Leptina: 1687.50 pg/mL Grelina: 9.00 pg/mL Insulina: 76.33 pg/mL Glucagón: 51.33 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Grave</b> <b>Degeneración celular tubular: Grave</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 101.93 µm</b>

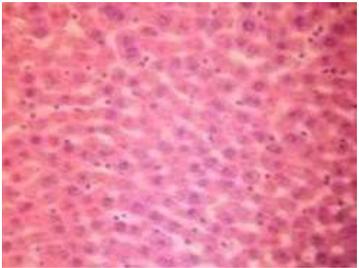
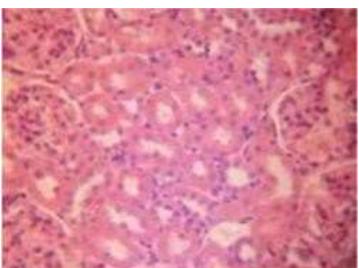
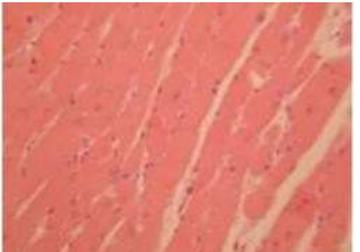
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñones, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.m. Dieta Teklad Global, agua con aspartame, machos**

Número de identificación: 137 Edulcorante: <b>Aspartame</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 225.5 g Masa órgano: 790 mg C, 5890 mg H, 800 mg R, 2240 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.35% C, 2.61% H, 0.35% R, 0.99% TR GIP: 125.17 pg/mL Colesterol: 85.68 mg/dL Triglicéridos: 145.21 mg/dL Leptina: 2466.50 pg/mL Grelina: 7.67 pg/mL Insulina: 79.00 pg/mL Glucagón: 47.33 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Ausente</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Ausente</b>	<b>Daño glomerular: Grave</b> <b>Degeneración celular tubular: Grave</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 115.50 µm</b>
Número de identificación: 138 Edulcorante: <b>Aspartame</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 357.3 g Masa órgano: 1240 mg C, 9930 mg H, 1400 mg R, 4700 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.35% C, 2.78% H, 0.39% R, 1.32% TR GIP: 89.67 pg/mL Colesterol: 103.65 mg/dL Triglicéridos: 144.08 mg/dL Leptina: 2763.67 pg/mL Grelina: 7.00 pg/mL Insulina: 176.67 pg/mL Glucagón: 44.17 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Leve</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 95.99 µm</b>

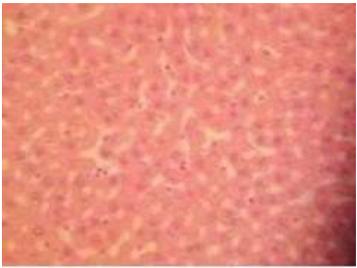
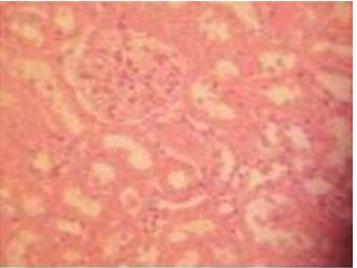
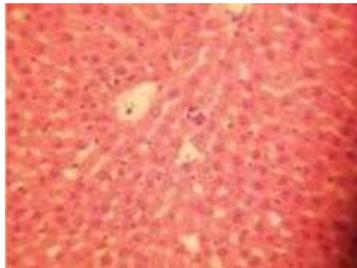
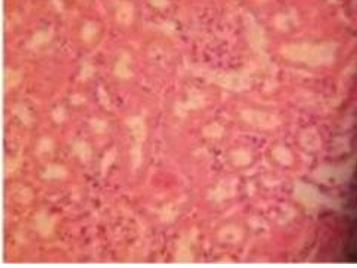
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñones, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.n. Dieta Teklad Global, agua con aspartame, hembras**

Número de identificación: 170 Edulcorante: <b>Aspartame</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 150.9 g Masa órgano: 850 mg C, 5850 mg H, 650 mg R, 1580 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.56% C, 3.88% H, 0.43% R, 1.05% TR GIP: 210.33 pg/mL Colesterol: 178.32 mg/dL Triglicéridos: 187.78 mg/dL Leptina: 1565.17 pg/mL Grelina: 8.00 pg/mL Insulina: 76.33 pg/mL Glucagón: 47.67 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Moderado</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Moderado</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 78.69 µm</b>
Número de identificación: 113 Edulcorante: <b>Aspartame</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 189.7 g Masa órgano: 780 mg C, 7430 mg H, 820 mg R, 2920 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.41% C, 3.92% H, 0.43% R, 1.54% TR GIP: 38.33 pg/mL Colesterol: 127.47 mg/dL Triglicéridos: 129.70 mg/dL Leptina: 926.00 pg/mL Grelina: 7.67 pg/mL Insulina: 100.00 pg/mL Glucagón: 34.00 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Nulo</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Nulo</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 83.65 µm</b>

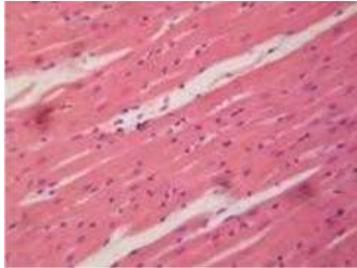
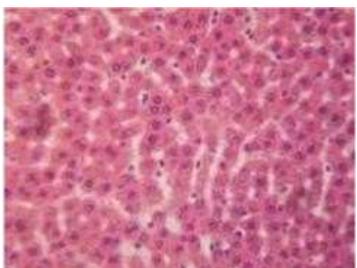
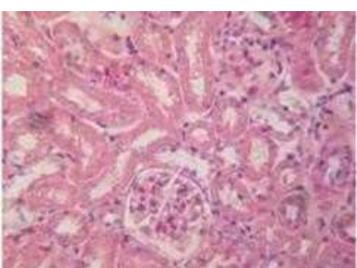
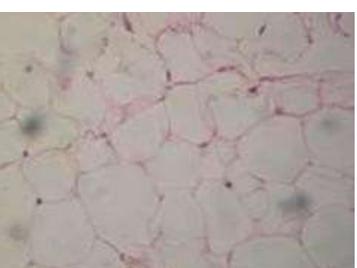
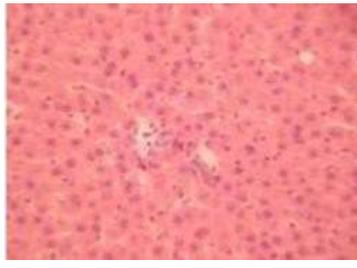
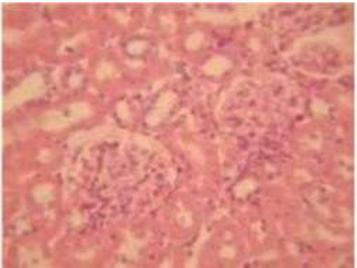
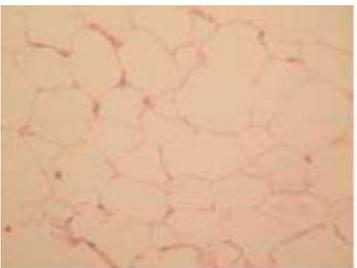
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñones, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.o. Dieta Teklad Global, agua con mezcla (acesulfame K - Aspartame), machos**

Número de identificación: 20 Edulcorante: <b>Mezcla</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 323.1 g Masa órgano: 1300 mg C, 9060 mg H, 990 mg R, 4720 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.40% C, 2.80% H, 0.31% R, 1.46% TR GIP: 97.17 pg/mL Colesterol: 81.70 mg/dL Triglicéridos: 161.05 mg/dL Leptina: 3780.67 pg/mL Grelina: 9.00 pg/mL Insulina: 47.33 pg/mL Glucagón: 46.17 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	Lipofuscina: Leve Necrosis: Nulo	Degeneración vacuolar: Moderado Fibrosis/Inflamación: Nulo	Daño glomerular: Nulo Degeneración celular tubular: Nulo	Longitud mayor adipocitaria: 97.35 µm
Número de identificación: 15 Edulcorante: <b>Mezcla</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 403.2 g Masa órgano: 1730 mg C, 10330 mg H, 1060 mg R, 6760 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.43% C, 2.56% H, 0.26% R, 1.68% TR GIP: 113.33 pg/mL Colesterol: 91.59 mg/dL Triglicéridos: 112.11 mg/dL Leptina: 4178.17 pg/mL Grelina: 9.00 pg/mL Insulina: 219.00 pg/mL Glucagón: 51.67 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	Lipofuscina: Leve Necrosis: Nulo	Degeneración vacuolar: Leve Fibrosis/Inflamación: Leve	Daño glomerular: Grave Degeneración celular tubular: Grave	Longitud mayor adipocitaria: 87.42 µm

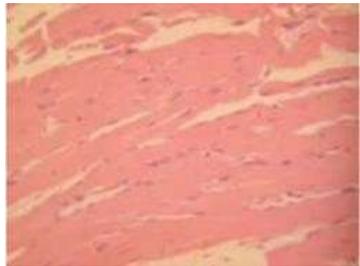
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñones, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.p. Dieta Teklad Global, agua con mezcla (acesulfame K – aspartame), hembras**

Número de identificación: 118 Edulcorante: <b>Mezcla</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 140.9 g Masa órgano: 880 mg C, 5250 mg H, 590 mg R, 800 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.63% C, 3.73% H, 0.42% R, 0.47% TR GIP: 83.33 pg/mL Colesterol: 129.43 mg/dL Triglicéridos: 110.86 mg/dL Leptina: 1967.00 pg/mL Grelina: 8.00 pg/mL Insulina: 83.67 pg/mL Glucagón: 45.83 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Grave</b> <b>Degeneración celular tubular: Grave</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 64.85 µm</b>
Número de identificación: 83 Edulcorante: <b>Mezcla</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 198.2 g Masa órgano: 890 mg C, 6180 mg H, 830 mg R, 3600 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.45% C, 3.12% H, 0.42% R, 1.82% TR GIP: 179.83 pg/mL Colesterol: 50.07 mg/dL Triglicéridos: 83.00 mg/dL Leptina: 1308.67 pg/mL Grelina: 8.00 pg/mL Insulina: 63.00 pg/mL Glucagón: 44.00 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Nulo</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 54.63 µm</b>

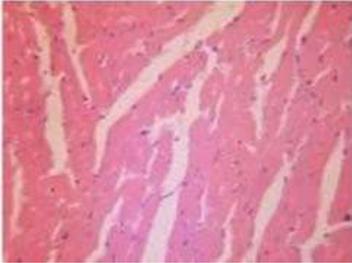
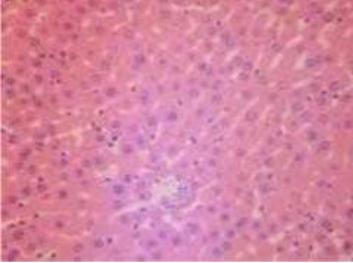
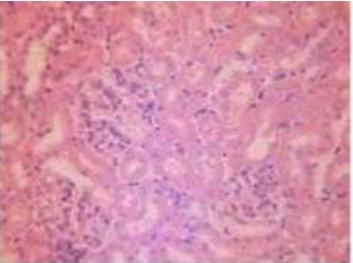
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñones, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.q. Dieta Teklad Global, agua con estevia, machos**

Número de identificación: 25 Edulcorante: <b>Estevia</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 328. g Masa órgano: 1160 mg C, 10610 mg H, 1030 mg R, 2660 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.35% C, 3.23% H, 0.31% R, 0.81% TR GIP: 190.83 pg/mL Colesterol: 111.92 mg/dL Triglicéridos: 122.85 mg/dL Leptina: 2473.33 pg/mL Grelina: 12.33 pg/mL Insulina: 249.17 pg/mL Glucagón: 47.33 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Nulo</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Nulo</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Nulo</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 94.64 µm</b>
Número de identificación: 19 Edulcorante: <b>Estevia</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 448.6 g Masa órgano: 1330 mg C, 11240 mg H, 1170 mg R, 6910 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.30% C, 2.51% H, 0.26% R, 1.54% TR GIP: 89.33 pg/mL Colesterol: 84.84 mg/dL Triglicéridos: 142.33 mg/dL Leptina: 3603.33 pg/mL Grelina: 9.67 pg/mL Insulina: 155.33 pg/mL Glucagón: 48.00 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Nulo</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Grave</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 98.65 µm</b>

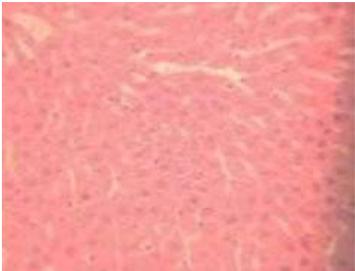
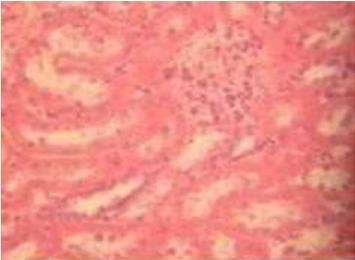
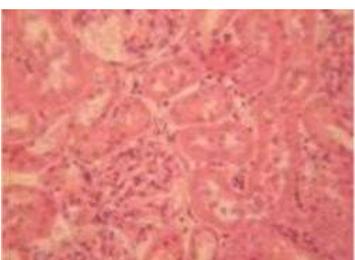
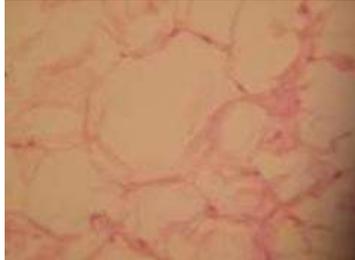
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñones, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.r. Dieta Teklad Global, agua con estevia, hembras**

Número de identificación: 122 Edulcorante: <b>Estevia</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 138.6 g Masa órgano: 770 mg C, 6200 mg H, 810 mg R, 2290 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.56% C, 4.47% H, 0.58% R, 1.65% TR GIP: 106.00 pg/mL Colesterol: 89.28 mg/dL Triglicéridos: 127.72 mg/dL Leptina: 1023.50 pg/mL Grelina: 8.67 pg/mL Insulina: 96.00 pg/mL Glucagón: 50.50 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Nulo</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Moderado</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Leve</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 70.53 µm</b>
Número de identificación: 37 Edulcorante: <b>Estevia</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 191.9 g Masa órgano: 940 mg C, 7170 mg H, 650 mg R, 1670 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.49% C, 3.74% H, 0.34% R, 0.87% TR GIP: 332.83 pg/mL Colesterol: 99.78 mg/dL Triglicéridos: 222.26 mg/dL Leptina: 1878.33 pg/mL Grelina: 8.67 pg/mL Insulina: 171.33 pg/mL Glucagón: 58.00 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Nulo</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Moderado</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Nulo</b> <b>Degeneración celular tubular: Leve</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 105.59 µm</b>

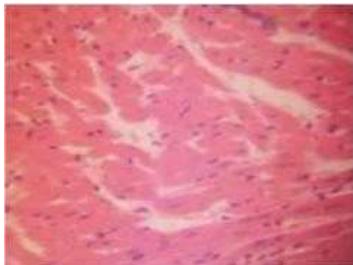
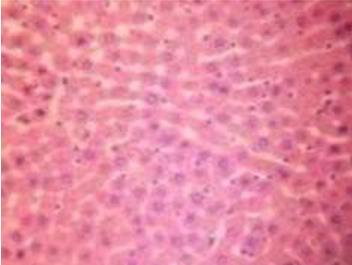
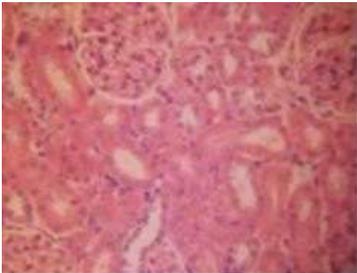
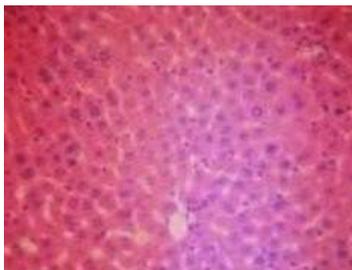
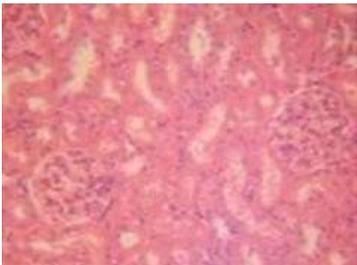
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñones, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.s. Dieta Teklad Global, agua con sacarina, machos**

Número de identificación: 02 Edulcorante: <b>Sacarina</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 295.8 g Masa órgano: 1260 mg C, 8840 mg H, 990 mg R, 3850 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.43% C, 2.99% H, 0.33% R, 1.30% TR GIP: 168.00 pg/mL Colesterol: 77.68 mg/dL Triglicéridos: 113.42 mg/dL Leptina: 3250.67 pg/mL Grelina: 13.67 pg/mL Insulina: 297.00 pg/mL Glucagón: 68.00 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Nulo</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Moderado</b> <b>Degeneración celular tubular: Leve</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 93.31 µm</b>
Número de identificación: 14 Edulcorante: <b>Sacarina</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 461.2 g Masa órgano: 2260 mg C, 12670 mg H, 1230 mg R, 6220 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.49% C, 2.75% H, 0.27% R, 1.35% TR GIP: 97.83 pg/mL Colesterol: 96.19 mg/dL Triglicéridos: 78.21 mg/dL Leptina: 3537.00 pg/mL Grelina: 10.67 pg/mL Insulina: 305.17 pg/mL Glucagón: 47.33 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Moderado</b> <b>Degeneración celular tubular: Nulo</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 106.32 µm</b>

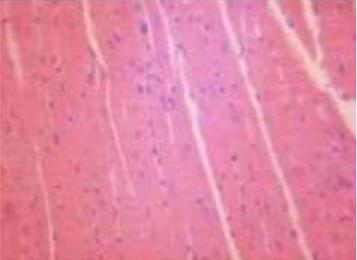
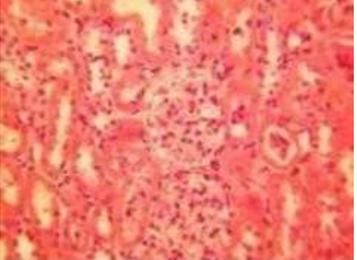
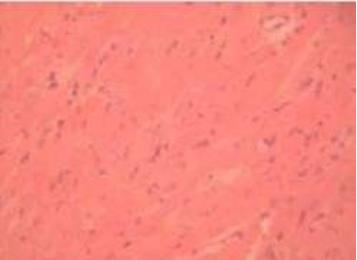
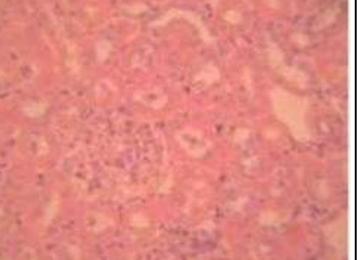
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñones, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.t. Dieta Teklad Global, agua con sacarina, hembras**

Número de identificación: 130 Edulcorante: <b>Sacarina</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 147.4 g Masa órgano: 1230 mg C, 6190 mg H, 620 mg R, 1080 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.83% C, 4.20% H, 0.42% R, 0.73% TR GIP: 169.33 pg/mL Colesterol: 137.65 mg/dL Triglicéridos: 157.40 mg/dL Leptina: 2037.67 pg/mL Grelina: 8.00 pg/mL Insulina: 43.17 pg/mL Glucagón: 50.33 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Leve</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Moderado</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 88.07 µm</b>
Número de identificación: 36 Edulcorante: <b>Sacarina</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 203.4 g Masa órgano: 790 mg C, 5930 mg H, 690 mg R, 2600 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.39% C, 2.92% H, 0.34% R, 1.28% TR GIP: 268.33 pg/mL Colesterol: 75.31 mg/dL Triglicéridos: 101.38 mg/dL Leptina: 1687.67 pg/mL Grelina: 9.00 pg/mL Insulina: 96.67 pg/mL Glucagón: 58.00 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Nulo</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Nulo</b> <b>Degeneración celular tubular: Leve</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 84.69 µm</b>

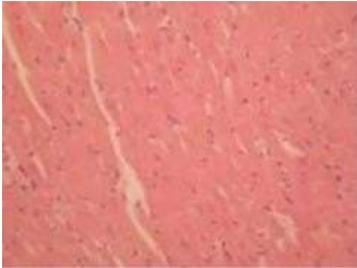
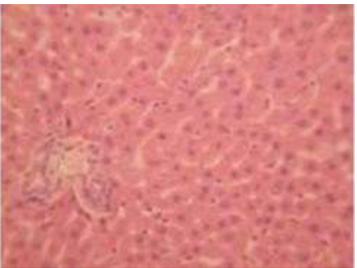
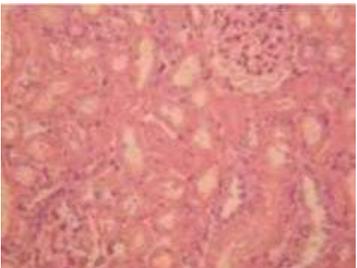
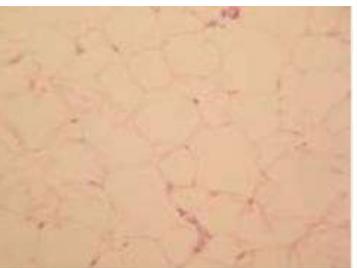
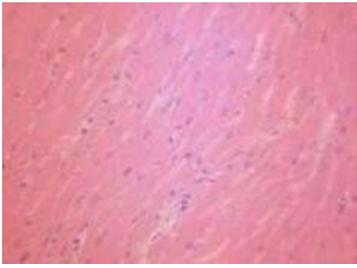
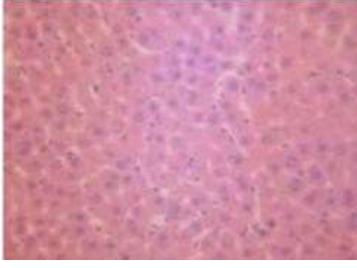
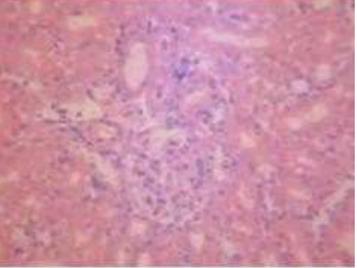
m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñones, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.u. Dieta Teklad Global, agua con sucralosa, machos**

Número de identificación: 46 Edulcorante: <b>Sucralosa</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 312.0 g Masa órgano: 1180 mg C, 9200 mg H, 1000 mg R, 3650 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.38% C, 2.95% H, 0.32% R, 1.17% TR GIP: 135.33 pg/mL Colesterol: 85.89 mg/dL Triglicéridos: 200.82 mg/dL Leptina: 2693.67 pg/mL Grelina: 9.33 pg/mL Insulina: 157.17 pg/mL Glucagón: 45.33 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Nulo</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Nulo</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Moderado</b> <b>Degeneración celular tubular: Leve</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 87.19 µm</b>
Número de identificación: 51 Edulcorante: <b>Sucralosa</b> Sexo: <b>Macho</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 395.8 g Masa órgano: 2060 mg C, 9830 mg H, 1120 mg R, 6410 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.52% C, 2.48% H, 0.28% R, 1.62% TR GIP: 162.50 pg/mL Colesterol: 69.33 mg/dL Triglicéridos: 122.05 mg/dL Leptina: 3779.17 pg/mL Grelina: 10.17 pg/mL Insulina: 407.33 pg/mL Glucagón: 49.67 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Nulo</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Moderado</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Nulo</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 86.95 µm</b>

m.o. =masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñones, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.2.v. Dieta Teklad Global, agua con sucralosa, hembras**

Número de identificación: 111 Edulcorante: <b>Sucralosa</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 143.7 g Masa órgano: 810 mg C, 6220 mg H, 670 mg R, 590 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.56% C, 4.33% H, 0.47% R, 0.41% TR GIP: 105.50 pg/mL Colesterol: 138.30 mg/dL Triglicéridos: 174.96 mg/dL Leptina: 1684.83 pg/mL Grelina: 9.00 pg/mL Insulina: 58.33 pg/mL Glucagón: 54,67 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Nulo</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Nulo</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Leve</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Moderado</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 67.50 µm</b>
Número de identificación: 44 Edulcorante: <b>Sucralosa</b> Sexo: <b>Hembra</b>	<b>Corazón</b>	<b>Hígado</b>	<b>Riñón</b>	<b>Tejido adiposo retroperitoneal</b>
Masa corporal: 209.8 g Masa órgano: 1020 mg C, 7790 mg H, 710 mg R, 2840 mg TR Rel. m.o.:m.c.=0.49% C, 3.71% H, 0.34% R, 1.35% TR GIP: 658.17 pg/mL Colesterol: 70.27 mg/dL Triglicéridos: 180.99 mg/dL Leptina: 2724.17 pg/mL Grelina: 9.33 pg/mL Insulina: 133.67 pg/mL Glucagón: 47.50 pg/mL				
<b>Observaciones</b>	<b>Lipofuscina: Nulo</b> <b>Necrosis: Nulo</b>	<b>Degeneración vacuolar: Leve</b> <b>Fibrosis/Inflamación: Nulo</b>	<b>Daño glomerular: Leve</b> <b>Degeneración celular tubular: Nulo</b>	<b>Longitud mayor adipocitaria: 65.4 µm</b>

m.o.=masa órgano, m.c.=masa corporal, C=corazón, H=hígado, R=riñones, TR=tejido retroperitoneal

**Tabla A.3.3.** Resultados generales de los parámetros evaluados durante la experimentación

ID	Edulcorante	Sexo	Riñones		Hígado		Corazón		Tejido adiposo retroperitoneal	
			Daño glomerular	Deg. celular tubular	Deg. vacuolar	Fibrosis/Inflamación	Necrosis miocardia	Lipofuscina	LMA (µm)	Masa de tejido (g)
32	Acesulfame K	H	2	0	1	0	0	1	87.08	1.91
39	Acesulfame K	H	3	0	2	0	0	0	101.93	1.77
40	Acesulfame K	H	0	1	1	0	0	0	88.19	1.05
75	Acesulfame K	H	1	2	1	1	0	0	94.72	1.93
77	Acesulfame K	H	0	2	0	1	0	0	40.33	2.6
117	Acesulfame K	H	2	2	0	1	0	1	69.61	0.89
167	Acesulfame K	H	3	3	1	1	0	1	81.51	1.02
169	Acesulfame K	H	2	2	2	1	0	1	86.9	0.61
35	AIN93M	H	1	0	2	0	0	0	81.83	3.71
65	AIN93M	H	1	2	0	1	0	0	49.22	3.39
66	AIN93M	H	1	2	1	1	0	0	40.27	0.83
71	AIN93M	H	2	2	2	1	0	0	24.92	4.85
81	AIN93M	H	0	1	0	1	0	0	23.06	1.93
123	AIN93M	H	1	1	1	1	0	1	63.1	1
129	AIN93M	H	1	2	1	0	0	1	83.16	1.63
165	AIN93M	H	2	3	3	3	0	1	78.69	0.73
78	Aspartame	H	0	0	0	0	0	0	89.45	2.81
82	Aspartame	H	1	2	1	1	0	0	49.94	1.13
87	Aspartame	H	0	1	1	1	0	0	82.55	3.15
113	Aspartame	H	1	2	0	1	0	0	83.65	2.92
121	Aspartame	H	1	1	0	0	0	1	47.9	2.02
164	Aspartame	H	1	2	1	0	0	1	101.65	1.75
170	Aspartame	H	2	2	2	0	0	1	78.69	1.58

**Tabla A.3.3.** Resultados generales de los parámetros evaluados durante la experimentación (continuación)

ID	Edulcorante	Sexo	Riñones		Hígado		Corazón		Tejido adiposo retroperitoneal	
			Daño glomerular	Deg. celular tubular	Deg. vacuolar	Fibrosis/Inflamación	Necrosis miocardia	Lipofuscina	LMA (µm)	Masa de tejido (g)
174	Aspartame	H	2	2	2	1	0	1	132.79	1.42
28	Control	H	0	1	2	0	0	1	88.06	3.82
38	Control	H	0	1	0	1	0	0	85.66	2.54
84	Control	H	0	2	1	1	0	0	86.42	3.15
85	Control	H	1	2	0	1	0	0	87.63	5.47
88	Control	H	0	2	0	1	0	0	104.23	1.47
124	Control	H	1	2	1	0	0	1	69.48	1.81
128	Control	H	2	1	2	1	0	1	95.58	2.15
157	Control	H	3	2	1	0	0	0	76.65	0.59
37	Estevia	H	0	1	2	0	0	0	105.79	1.67
73	Estevia	H	1	2	1	1	0	0	97.06	4.18
80	Estevia	H	1	2	0	1	0	0	98.67	1.6
122	Estevia	H	1	1	2	0	0	0	70.53	2.29
125	Estevia	H	0	0	0	0	0	1	82.63	1.07
155	Estevia	H	2	2	2	1	0	1	78.56	0.72
171	Estevia	H	3	3	2	1	0	1	105.51	1.37
175	Estevia	H	2	2	2	0	0	1	90.05	0.94
26	Fructosa	H	3	1	2	1	0	0	78.59	2.01
31	Fructosa	H	1	0	1	1	0	0	66.79	5.06
116	Fructosa	H	1	2	0	1	0	1	63.14	0.87
120	Fructosa	H	1	2	2	1	0	1	78.69	0.9
159	Fructosa	H	3	3	1	0	0	1	93.57	1.55
162	Fructosa	H	2	1	1	0	0	1	122.55	1.91
166	Fructosa	H	2	2	1	0	0	1	108.38	2.82

**Tabla A.3.3.** Resultados generales de los parámetros evaluados durante la experimentación (continuación)

ID	Edulcorante	Sexo	Riñones		Hígado		Corazón		Tejido adiposo retroperitoneal	
			Daño glomerular	Deg. celular tubular	Deg. vacuolar	Fibrosis/Inflamación	Necrosis miocardia	Lipofuscina	LMA (µm)	Masa de tejido (g)
173	Fructosa	H	2	2	2	1	0	1	133.76	1.88
27	Glucosa	H	0	0	1	0	0	0	59.59	2.37
30	Glucosa	H	3	0	1	0	0	0	85.45	3.77
34	Glucosa	H	0	0	2	0	0	0	72.12	5.95
76	Glucosa	H	2	2	1	1	0	0	63.42	3.89
86	Glucosa	H	1	2	0	1	0	0	78.54	6.42
114	Glucosa	H	0	2	0	1	0	0	84.81	0.8
126	Glucosa	H	2	3	2	1	0	1	75.27	0.88
127	Glucosa	H	2	2	2	1	0	1	69.91	2.46
68	Mezcla	H	2	2	2	1	0	0	35.13	3.07
70	Mezcla	H	2	2	1	0	0	0	34.7	1.15
79	Mezcla	H	2	2	2	1	0	0	80.58	1.26
83	Mezcla	H	1	2	1	1	0	0	54.63	3.6
112	Mezcla	H	1	2	1	1	0	0	74.06	1.3
115	Mezcla	H	2	2	0	1	0	1	49.87	3.32
118	Mezcla	H	3	3	1	1	0	1	64.85	0.8
163	Mezcla	H	2	1	1	0	0	1	57.35	1.57
33	Sacarina	H	2	1	2	1	0	0	110.49	6.12
36	Sacarina	H	0	1	1	0	0	0	84.69	2.6
41	Sacarina	H	0	0	2	0	0	0	114.63	2.08
64	Sacarina	H	1	1	1	1	0	0	65.89	3.44
69	Sacarina	H	2	2	1	1	0	0	57.16	3.61
130	Sacarina	H	2	2	1	0	0	1	88.07	1.08
158	Sacarina	H	1	1	1	0	0	1	78.69	0.98

**Tabla A.3.3.** Resultados generales de los parámetros evaluados durante la experimentación (continuación)

ID	Edulcorante	Sexo	Riñones		Hígado		Corazón		Tejido adiposo retroperitoneal	
			Daño glomerular	Deg. celular tubular	Deg. vacuolar	Fibrosis/Inflamación	Necrosis miocardia	Lipofuscina	LMA (µm)	Masa de tejido (g)
172	Sacarina	H	2	2	2	1	0	1	92.91	0.7
29	Sacarosa	H	1	1	2	0	0	0	80.81	3.78
67	Sacarosa	H	1	2	0	1	0	0	93.09	3.65
72	Sacarosa	H	2	2	1	1	0	0	93.09	6.01
74	Sacarosa	H	1	2	2	1	0	0	78.28	2.98
119	Sacarosa	H	2	2	2	1	0	1	78.69	1.15
131	Sacarosa	H	3	3	2	1	0	1	86.69	6.7
161	Sacarosa	H	2	2	1	0	0	1	111.22	3.12
176	Sacarosa	H	3	3	2	1	0	1	91.57	2.02
42	Sucralosa	H	1	0	1	0	0	0	90.28	0.62
43	Sucralosa	H	1	0	1	0	0	0	69.23	1.06
44	Sucralosa	H	1	0	1	0	0	0	65.4	2.84
111	Sucralosa	H	1	2	0	1	0	0	67.5	0.59
132	Sucralosa	H	1	2	1	0	0	1	92.29	1.72
156	Sucralosa	H	1	1	1	0	0	1	76.97	1.51
160	Sucralosa	H	2	3	2	0	0	1	134.57	3.21
168	Sucralosa	H	3	2	1	0	0	1	85.89	0.92
13	Acesulfame K	M	1	0	1	1	0	0	90.48	3.59
47	Acesulfame K	M	1	0	1	0	0	0	101.15	3.5
49	Acesulfame K	M	0	0	1	0	0	0	47.8	6.81
55	Acesulfame K	M	0	1	2	0	0	0	92.84	2.75
59	Acesulfame K	M	1	2	0	1	0	0	51.42	5.94
63	Acesulfame K	M	1	2	0	1	0	0	104.81	4.65
144	Acesulfame K	M	2	3	2	1	0	1	98.74	6.21

**Tabla A.3.3.** Resultados generales de los parámetros evaluados durante la experimentación (continuación)

ID	Edulcorante	Sexo	Riñones		Hígado		Corazón		Tejido adiposo retroperitoneal	
			Daño glomerular	Deg. celular tubular	Deg. vacuolar	Fibrosis/Inflamación	Necrosis miocardia	Lipofuscina	LMA (µm)	Masa de tejido (g)
146	Acesulfame K	M	2	2	1	0	0	1	96.62	4.14
16	AIN93M	M	1	2	2	1	0	0	98.65	6.79
22	AIN93M	M	1	0	1	0	0	0	105.37	7.2
58	AIN93M	M	0	0	0	2	0	0	76.46	4.46
96	AIN93M	M	2	2	0	1	0	0	82.45	7.8
102	AIN93M	M	1	2	1	1	0	0	99.27	4.17
105	AIN93M	M	1	2	1	1	0	0	77.76	3.94
142	AIN93M	M	3	3	1	0	0	0	116.73	5.32
153	AIN93M	M	2	2	1	0	0	0	115.46	5.57
99	Aspartame	M	1	2	1	1	0	0	82.76	3.43
108	Aspartame	M	2	2	1	2	0	0	118.56	3.12
110	Aspartame	M	1	2	0	1	0	0	91.84	3.72
137	Aspartame	M	3	3	0	0	0	1	115.5	2.24
138	Aspartame	M	1	1	1	0	0	1	95.99	4.7
140	Aspartame	M	1	2	2	0	0	1	102.12	3.01
147	Aspartame	M	1	2	1	0	0	1	116.1	4.27
151	Aspartame	M	2	2	0	0	0	1	100.11	1.66
3	Control	M	1	0	0	0	0	0	73.4	2.27
21	Control	M	2	0	1	0	0	0	101.56	5.61
57	Control	M	0	0	1	0	0	0	34.32	4.5
61	Control	M	0	2	0	1	0	1	27.14	4.28
93	Control	M	0	2	0	1	0	0	103.99	3.33
94	Control	M	1	2	1	1	0	0	99.87	5.23
100	Control	M	1	2	1	1	0	0	98.11	6.1

**Tabla A.3.3.** Resultados generales de los parámetros evaluados durante la experimentación (continuación)

ID	Edulcorante	Sexo	Riñones		Hígado		Corazón		Tejido adiposo retroperitoneal	
			Daño glomerular	Deg. celular tubular	Deg. vacuolar	Fibrosis/Inflamación	Necrosis miocardia	Lipofuscina	LMA (µm)	Masa de tejido (g)
143	Control	M	2	2	1	0	0	1	124.17	3.51
18	Estevia	M	3	1	0	0	0	1	35.72	7.74
19	Estevia	M	3	2	1	0	0	0	98.65	6.91
25	Estevia	M	1	0	0	0	0	0	94.64	2.66
56	Estevia	M	2	0	1	0	0	0	65.17	5.44
62	Estevia	M	0	2	0	1	0	0	97.47	6
90	Estevia	M	1	2	1	1	0	0	47.14	2.18
95	Estevia	M	3	3	1	1	0	0	97.34	4.54
97	Estevia	M	1	2	0	1	0	0	47.83	3.34
6	Fructosa	M	2	0	0	1	0	0	88.34	2.88
23	Fructosa	M	2	0	0	1	0	0	68.65	2.8
104	Fructosa	M	1	2	1	2	0	0	57.03	3.68
107	Fructosa	M	1	2	1	1	0	0	89.92	4.32
109	Fructosa	M	0	2	0	1	0	1	40.02	5.69
145	Fructosa	M	3	3	1	0	0	1	125.77	6.48
149	Fructosa	M	2	2	1	1	0	1	108.79	2.89
152	Fructosa	M	0	1	0	0	0	1	79.39	3.5
5	Glucosa	M	1	1	2	1	0	1	83.44	7.2
8	Glucosa	M	1	0	2	0	0	0	115.54	4.41
11	Glucosa	M	3	1	1	0	0	0	75.07	3.41
45	Glucosa	M	0	2	2	0	0	0	93.57	11.34
91	Glucosa	M	1	2	0	1	0	0	74.98	4.16
98	Glucosa	M	1	1	1	2	0	0	44.5	3.74
133	Glucosa	M	1	2	1	0	0	1	83.46	7.53

**Tabla A.3.3.** Resultados generales de los parámetros evaluados durante la experimentación (continuación)

ID	Edulcorante	Sexo	Riñones		Hígado		Corazón		Tejido adiposo retroperitoneal	
			Daño glomerular	Deg. celular tubular	Deg. vacuolar	Fibrosis/Inflamación	Necrosis miocardia	Lipofuscina	LMA (µm)	Masa de tejido (g)
135	Glucosa	M	3	3	2	1	0	1	123.27	4.53
12	Mezcla	M	2	0	2	0	0	0	90.75	3.09
15	Mezcla	M	1	0	2	0	0	1	87.42	6.76
17	Mezcla	M	2	0	2	0	0	0	104.63	5.24
20	Mezcla	M	0	0	2	0	0	1	97.35	4.72
24	Mezcla	M	1	0	1	0	0	0	107	3.88
52	Mezcla	M	1	0	1	0	0	0	64.02	4.11
103	Mezcla	M	1	2	0	1	0	0	100.7	3.95
139	Mezcla	M	2	2	1	1	0	1	106.76	3.51
2	Sacarina	M	2	1	1	0	0	0	93.31	3.85
7	Sacarina	M	2	1	1	0	0	1	86.37	4.34
14	Sacarina	M	0	0	1	0	0	1	106.32	6.22
60	Sacarina	M	0	2	0	1	0	0	40.02	4.44
89	Sacarina	M	2	2	1	1	0	0	89.76	1.74
92	Sacarina	M	2	2	0	1	0	0	26.21	4.26
134	Sacarina	M	1	2	1	0	0	1	108.04	4.3
148	Sacarina	M	2	2	1	0	0	1	134.92	4.66
1	Sacarosa	M	0	1	0	0	0	0	76.98	4.45
4	Sacarosa	M	2	0	0	1	0	1	69.14	5.89
10	Sacarosa	M	0	0	3	0	0	0	101.62	3.35
48	Sacarosa	M	0	1	1	0	0	0	40.94	8.86
50	Sacarosa	M	0	0	0	1	0	0	51.97	5.55
54	Sacarosa	M	2	0	0	0	0	1	62.13	5.81
101	Sacarosa	M	1	2	1	2	0	0	70.18	5.54

**Tabla A.3.3.** Resultados generales de los parámetros evaluados durante la experimentación (continuación)

ID	Edulcorante	Sexo	Riñones		Hígado		Corazón		Tejido adiposo retroperitoneal	
			Daño glomerular	Deg. celular tubular	Deg. vacuolar	Fibrosis/Inflamación	Necrosis miocardia	Lipofuscina	LMA (µm)	Masa de tejido (g)
154*	Sacarosa	M	0	0	0	0	0	0	0	0
9	Sucralosa	M	1	2	2	0	0	0	95.92	5.35
46	Sucralosa	M	0	1	0	0	0	0	87.19	3.65
51	Sucralosa	M	1	0	2	0	0	0	86.95	6.41
56	Sucralosa	M	2	0	1	0	0	0	63.34	9.12
106	Sucralosa	M	2	2	1	1	0	0	95.53	5
136	Sucralosa	M	1	2	2	0	0	1	95.44	4.85
141	Sucralosa	M	1	2	1	1	0	1	120.73	7.08
150	Sucralosa	M	2	2	2	0	0	1	96.71	4.64

\*Rata que falleció la noche anterior a la eutanasia

**Nota**

Para futuras investigaciones, la rata 154 que falleció por causas desconocidas la noche anterior a la eutanasia presentó los siguientes datos el último día que estuvo viva:

**Masa:** 398.5 g

**Alimento ingerido:** 5.1 g

**Volumen de agua con sacarosa ingerido:** 42 mL

**Alimento ingerido acumulado:** 1046.4 g

**Bebida ingerida acumulada:** 12080 mL

## Anexo 4. Gráficos de resultados

### Corazón

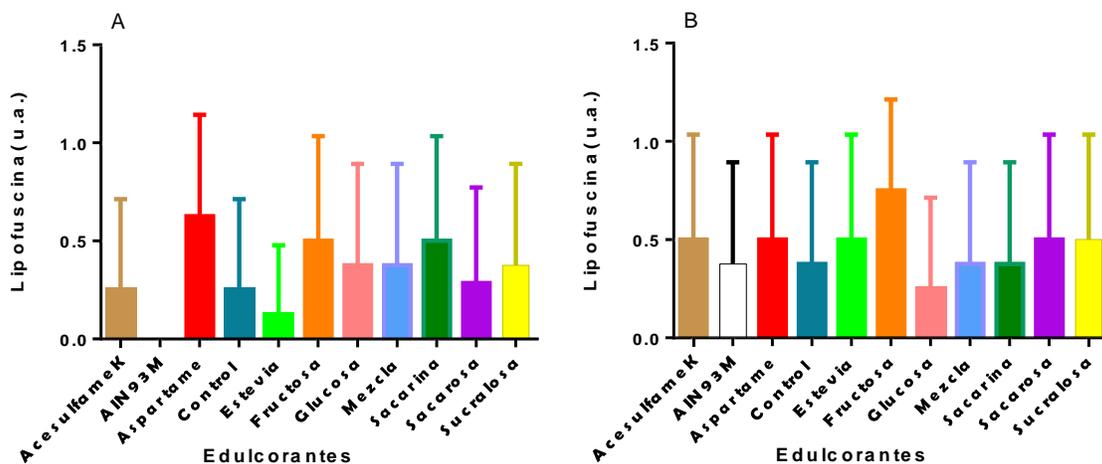


Figura A.4.1. Nivel de lipofuscina en ratas por edulcorante. A) Machos. B) Hembras

### Hígado

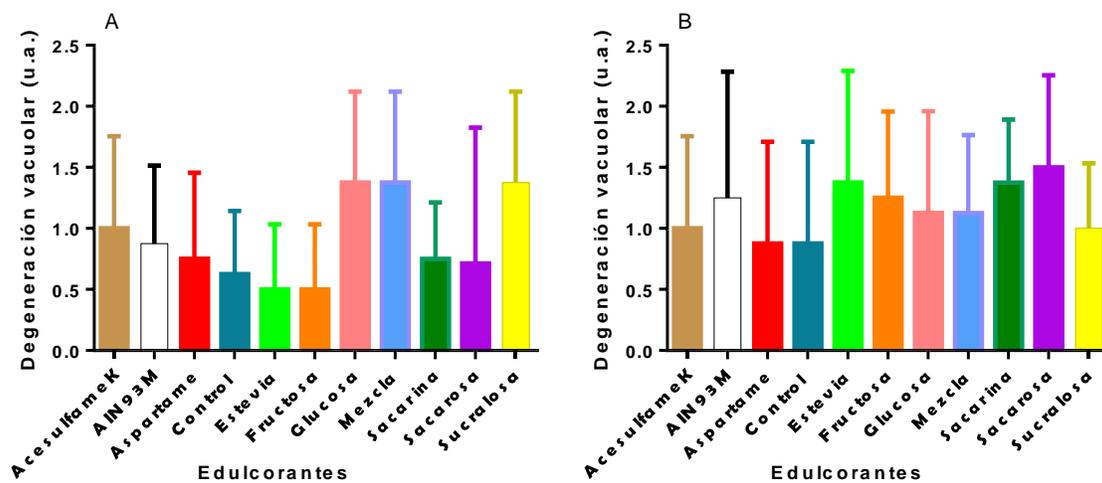
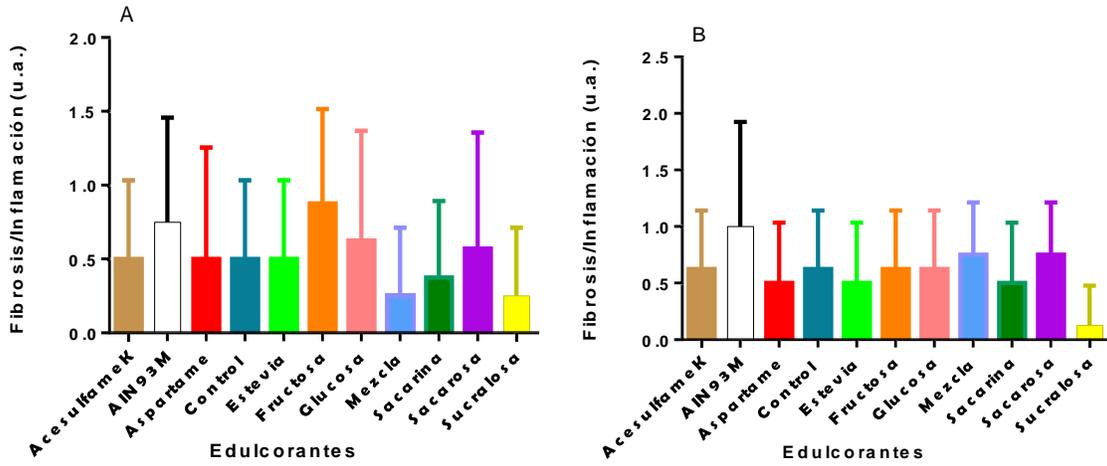
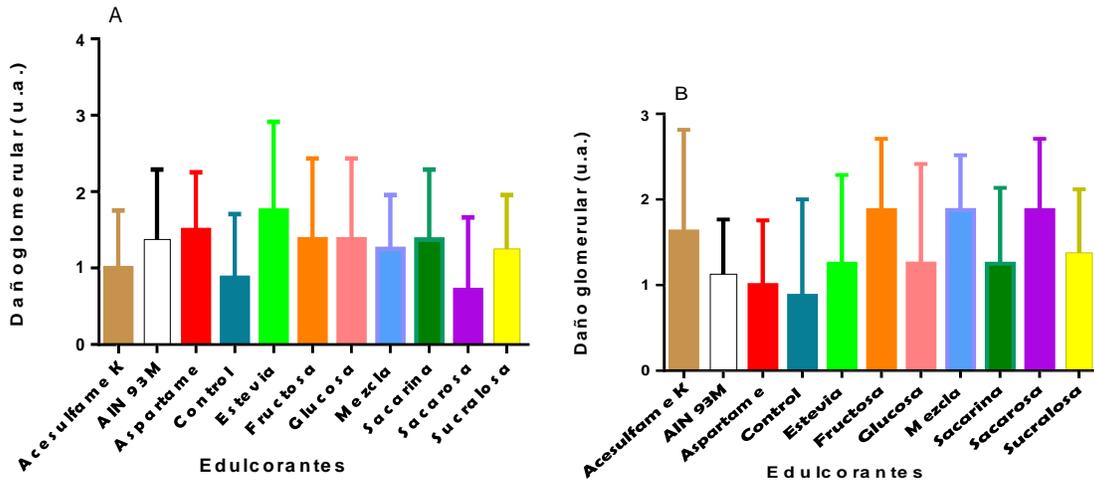


Figura A.4.2. Nivel de degeneración vacuolar en ratas por edulcorante. A) Machos. B) Hembras

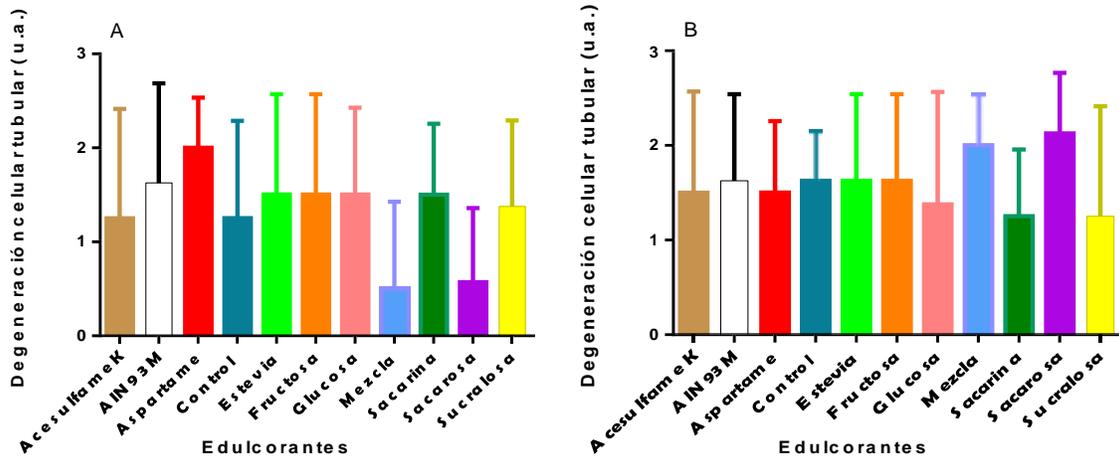


**Figura A.4.3.** Nivel de fibrosis/inflamación en ratas por edulcorante. A) Machos.  
B) Hembras

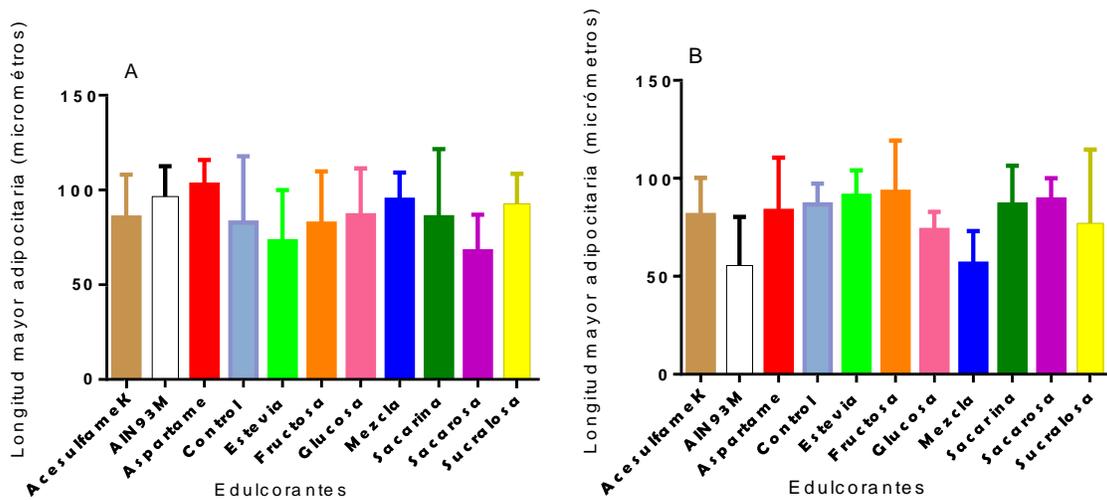
**Riñones**

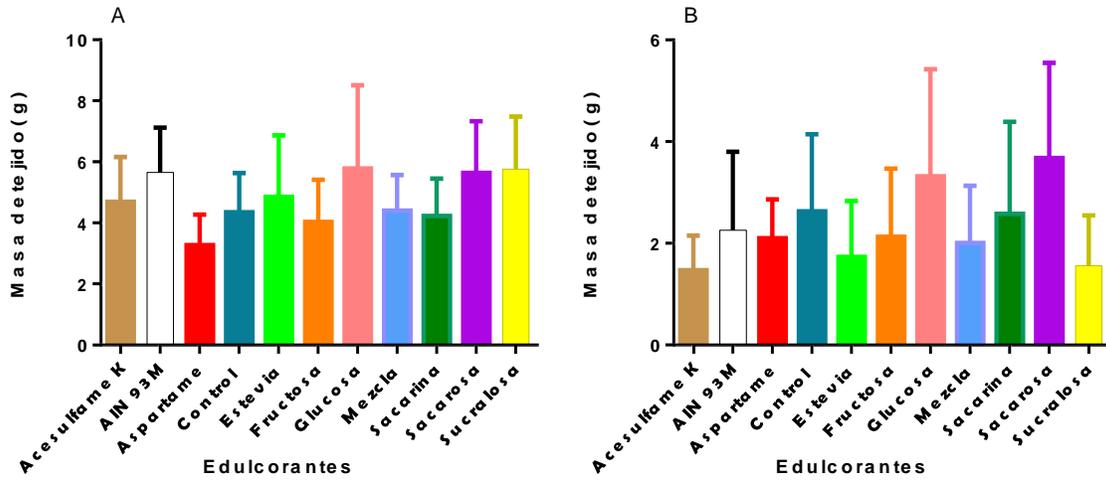


**Figura A.4.4.** Nivel de daño glomerular en ratas por edulcorante. A) Machos.  
B) Hembras



*Tejido adiposo retroperitoneal*





**Figura A.4.7.** Masa de tejido adiposo retroperitoneal en ratas por edulcorante.

A) Machos. B) Hembras

## Anexo 5. Hoja técnica de la dieta AIN93M

Teklad Custom Diet

**TD.94048**

**AIN-93M Purified Diet**



Formula	g/Kg
Casein	140.0
L-Cystine	1.8
Corn Starch	465.692
Maltodextrin	155.0
Sucrose	100.0
Soybean Oil	40.0
Cellulose	50.0
Mineral Mix, AIN-93M-MX (94049)	35.0
Vitamin Mix, AIN-93-VX (94047)	10.0
Choline Bitartrate	2.5
TBHQ, antioxidant	0.008

**Footnote**  
Reference: J. Nutr. 123:1939-1951, 1993. Formulated for the maintenance of adult, non-reproducing rodents.

**Selected Nutrient Information<sup>1</sup>**

	% by weight	% kcal from
<b>Protein</b>	12.4	13.7
<b>Carbohydrate</b>	68.3	75.9
<b>Fat</b>	4.1	10.3
<b>Kcal/g</b>	<b>3.6</b>	

<sup>1</sup> Values are calculated from ingredient analysis or manufacturer data

**Speak With A Nutritionist**  
+ (800) 483-5523  
+ [askanutritionist@envigo.com](mailto:askanutritionist@envigo.com)

*Teklad diets are designed & manufactured for research purposes only.*

**Key Features**

- + Purified Diet
- + American Institute of Nutrition
- + Maintenance
- + Commonly Used

**Key Planning Information**

- + Products are made fresh to order
- + Store product at 4°C or lower
- + Use within 6 months (applicable to most diets)
- + Box labeled with product name, manufacturing date, and lot number
- + Replace diet at minimum once per week  
*More frequent replacement may be advised*
- + Lead time:
  - 2 weeks non-irradiated
  - 4 weeks irradiated

**Product Specific Information**

- + 1/2" Pellet or Powder (free flowing)
- + Minimum order 3 Kg
- + Irradiation not advised
  - Contact a nutritionist for recommendations

**Options (fees will apply)**

- + Rush order (pending availability)
- + Irradiation (see Product Specific Information)
- + Vacuum packaging (1 and 2 Kg)

**Contact Us**  
Obtain pricing · Check order status  
+ [tekklad@envigo.com](mailto:tekklad@envigo.com)  
+ (800) 483-5523

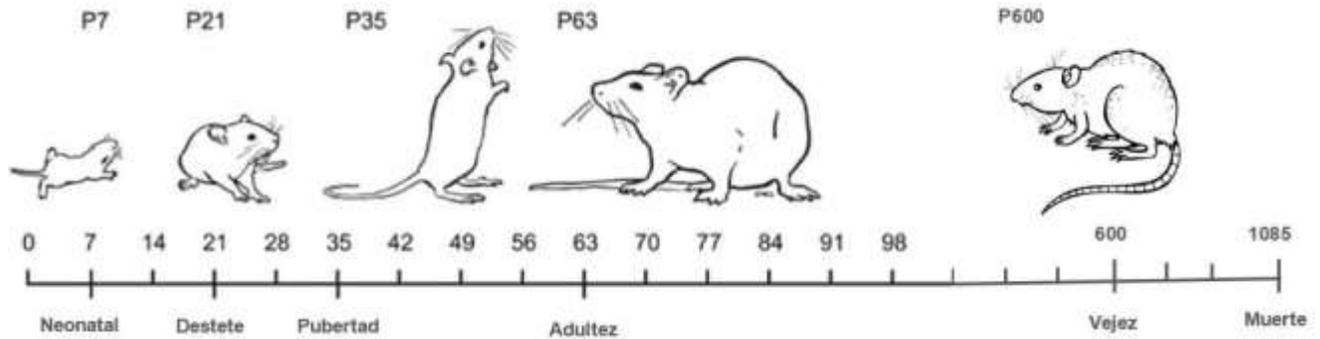


**International Inquiry (outside USA or Canada)**  
+ [askanutritionist@envigo.com](mailto:askanutritionist@envigo.com)

**Place Your Order (USA & Canada)**  
*Please Choose One*  
+ [envigo.com/tekklad-orders](http://envigo.com/tekklad-orders)  
+ [tekkladorders@envigo.com](mailto:tekkladorders@envigo.com)  
+ (800) 483-5523  
+ (608) 277-2066 *facsimile*

**Anexo 6.** Extracto del artículo de Sengupta (2013) sobre la correlación entre la edad de las ratas Wistar y la de los seres humanos

**Figura A.6.1** Cronología de la vida de una rata



**Tabla A.6.1** Correlación entre la edad de las ratas y la de los seres humanos

Etapa	Días humanos/ 1 día de rata	Duración del periodo (días)	Edad de rata (días)	Edad humana (días)
<b>Destete</b>	8.6	21	21	182.5
<b>Pubertad</b>	111.0	29	50	3358
<b>Adulthood</b>	34.8	13	63	3832.5
<b>Vejez</b>	31.0	537	600	20440
<b>Muerte</b>	21.4	485	1085	30842.5

Ejemplo destete  
 8.6 días humanos → 1 día de rata  
 X → 21 días (duración)

Ejemplo vejez  
 31.0 días humanos → 1 día de rata  
 X → 537 días (duración)

## **Anexo 7.** Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación

El tratamiento de residuos se basa en el catálogo de Procedimientos de Bioseguridad en el Departamento de Patología, el cual pertenece al Sistema de Gestión de la Calidad en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, basado en la normatividad vigente. Dentro de las normas de referencia se encuentran:

- Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente. 28-01-1998. Última Reforma Decreto de Ley, 07-06-2013.
- Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos. 2007
- Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en Materia de Prevención y Control de la Contaminación de la Atmósfera. 2006
- Reglamento de la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos. Noviembre 2006.
- Ley Federal de Responsabilidad Ambiental. 07-07-2013.
- NOM-052-SEMARNAT-2005. Norma Oficial Mexicana que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.
- NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002. Norma Oficial Mexicana de Protección Ambiental- Salud Ambiental- Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos- Clasificación y Especificaciones de Manejo.
- Manual de Procedimientos de Seguridad en los Laboratorios de la UNAM, 2ª Edición. México: DGIRE-UNAM, 2002.
- Procedimiento para el Manejo de Residuos Peligrosos. FMVZ-UNAM, 2ª edición, 2010.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, G. (2012). Obesidad, tejido adiposo y resistencia a la insulina. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 46(2):183-194.
- Ahn, S., Jim, H., Nam, C., Suh, I. (2017). Sex difference in the effect of the fasting serum glucose level on the risk of coronary heart disease. *Journal of Cardiology*. 71:149-154.
- Almanza, P.J, Blancas, G., García, R., Alarcón, F., Cruz, M. (2008). Leptina y su relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2. *Gaceta Médica*. 144(6):535-542.
- Alonso J. (2010). Edulcorantes naturales. *La Granja. Revista de Ciencias de la vida*. 12(2):3-12.
- Arévalo, M. (s.f.) El riñón normal. Anatomía e histología. Recuperado el 26 de mayo del 2018, de <http://media.axon.es/pdf/70992.pdf>
- Bacha, W., Bacha, L. (2012). *Color atlas of veterinary histology*. 3ª edición. Wiley-Blackwell. Pp. 3-6. 139-135, 183-187. Iowa, EE.UU.
- Baduí, S. (2006). *Química de los alimentos*. 4ª edición. Pearson Educación. Pp. 260-264. México.
- Baggio, L., Drucker, D. (2007). Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*. 132:2131-2157.
- Banks, W. (1993). *Applied veterinary histology*. 3ª edición. Mosby Inc. Pp. 2-7. Missouri, EE.UU.
- Bian, X., Chi, L., Gao, B., Tu, P., Ru, H., Lu, K. (2017). The artificial sweetener acesulfame potassium affects the gut microbiome and body weight gain in CD-1 mice. *PLoS One*. 12(6):1-16.
- Bobbioni-Harsch, E., Habicht, F., Lehmann, T., James, R., Rohner-Jeanrenaud, F., Golay, A. (1997). Energy expenditure and substrates oxidative patterns, after glucose, fat or mixed load in normal weight subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*. 51:370-374.
- Bradley, F., Peter, T. (1982). *Bioquímica*. 1ª edición. Reverté. Pp. 23-25. Barcelona, España.

- Brandan, C., Llanos, I., Miño, C., Ruiz, D. (2006). *Hormonas pancreáticas*. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina. Recuperado el 21 de febrero del 2018, de <http://www.uaz.edu.mx/histo/Biologia/FaiUnneAr/Pdf/hpancreas.pdf>
- Bray, G., Nielsen, S.J., Popkin, B.M. (2004). Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemics of obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 537-543.
- Brymora, A., Flisinski, M., Johnson, R.J., Stefanska, A., Manitius, J. (2012). Low-fructose diet lowers blood pressure and inflammation in patients with chronic kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 27(2):608-612.
- Calzada, R., Ruiz, M., Altamirano, N., Padrón, M. (2013). Uso de edulcorantes no calóricos en niños. *Acta Pediátrica. México.* 34(4):205-211.
- Campos-Acevedo, N.P. (2017). Alteración de la microbiota intestinal causada por los edulcorantes artificiales hipocalóricos. Tesis de Licenciatura de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. México.
- Carmona, L. (2016). *Curso de bioquímica clínica*. Recuperado el 06 de enero del 2018, de: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Funcionalidad\\_Renal\\_22897.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Funcionalidad_Renal_22897.pdf)
- Castellanos, A., Rodríguez, S.M., Cardoso, G., Díaz, E., Tejero, M.E., Plata, L., Carbó, R. (2015). Adipose tissue redistribution caused by early consumption of a high sucrose diet in a rat model. *Nutrición Hospitalaria.* 31(6):2546-2553.
- Çelik, N., Bideci, A., Emeksiz, H., Döğler, E., Yüce, Ö. Camurdan, O., Cinaz, P. (2015). The relationship of metabolic parameters with serum uric acid and percentage of body fat in obese adolescents. *Turkish Journal of Pediatric Disease.* 2:90-95.
- Chapman-Novakofski, K. (2013). Nutrition. *Salem Press Encyclopedia of Science*. Recuperado el 07 de febrero del 2018, de <http://eds.b.ebscohost.com.pbidi.unam.mx:8080/eds/>
- Codex Alimentarius. (1995). Norma General para los Aditivos Alimentarios. Recuperado el 02 de febrero del 2018, de [http://www.fao.org/gsfaonline/docs/CXS\\_192s.pdf](http://www.fao.org/gsfaonline/docs/CXS_192s.pdf)
- Codex Alimentarius. (2016). Normas Internacionales de los Alimentos. Recuperado el 05 de febrero del 2018, de [http://www.fao.org/gsfaonline/docs/CXS\\_192s.pdf](http://www.fao.org/gsfaonline/docs/CXS_192s.pdf)

- Código Alimentario Español (2018). Recuperado el 05 de marzo del 2018, de <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1967-16485>
- Cofan, M. (2014). Mecanismos básicos. Absorción y excreción de colesterol y otros esteroides. *Journal Rank*. 26(1):41-47.
- Cónsole, G., Vidal, M. (2017). *Atlas de histología: Clasificación, correlación clínica y autoevaluación*. 1ª edición. Ediciones Journal. Pp. 83-87, 208-212. Buenos Aires, Argentina.
- Criée, C.-P., Berdel, D., Heise, D., Jörres, R.A., Kardos, P., Köhler, D., Leupold, W., Magnussen, H., Marek, W., Merget, R., Mitfessel, H., Rasche, K., Rolke, M., Smith, H.J., Sorichter, S., Worth, H. (2009). Empfehlungen zur Ganzkörperplethysmographie (Bodyplethysmographie) (Recommendations regarding body plethysmography). *Atemw-Lungenkrkh*. 6:256–272; 8:349–370
- Criée, C.-P., Berdel, D., Heise, D., Kardos, P., Köhler, D., Leupold, W., Magnussen, H., Marek, W., Merget, R., Mitfessel, H., Rolke, M., Sorichter, S., Worth, W., Wuthe, H. (2006). Empfehlungen der Deutschen Atemwegsliga zur Spirometrie (Recommendations of the German Airway League regarding spirometry). *Pneumologie*. 9:576-584. Recuperado el 13 de mayo del 2018, de [https://www.resmedjournal.com/article/S0954-6111\(11\)00055-2/fulltext#back-bib1](https://www.resmedjournal.com/article/S0954-6111(11)00055-2/fulltext#back-bib1)
- Damodaran, S., Parkin, K., Fennema, O. (2008). *Fennema Química de los Alimentos*. 4ta edición. Acribia S.A. Pp. 1, 5, 83-85, 689-695. Zaragoza, España.
- Departamento de Biología Celular y Tisular. (2012). *Repaso teórico de biología celular e histología médica. 2ª Unidad temática*. Recuperado el 02 de enero del 2018, de <http://www.facmed.unam.mx>
- Dirección General de Divulgación de la Ciencia. (2017). *Qué sabes sobre la fibrosis hepática?* Recuperado el 13 de enero del 2018, de <http://www.fundacionunam.org.mx/unam-al-dia/que-sabes-sobre-la-fibrosis-hepatica/>
- DOF. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010. Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus: Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F., México.
- 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.

- Durán, S., Blanco, E., Rodríguez, M., Córdón, K., Salazar, J., Record, J., Cereceda, M., Antezana, S., Espinoza, S., Encina, C. (2015). Asociación entre edulcorantes no nutritivos y riesgo de obesidad en estudiantes universitarios de Latinoamérica. *Revista Médica Chile*. 143:367-373.
- Durán-de-Bazúa, M.C. 2017. Aditivos: Negocios a la Moda. Parte IV. *RD-ICUAP*. 3(2)1-15. ISSN: 2448-5829 (Online). [http://www.icuap.buap.mx/docs/revista\\_ocho/articulos\\_largos/aditivos.pdf](http://www.icuap.buap.mx/docs/revista_ocho/articulos_largos/aditivos.pdf)
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. (2016). Green engineering and food and non alcoholic drinks? A relevant issue. Part 2. Food additives as pollutants / *¿Ingeniería verde y etiquetado de alimentos y bebidas no alcohólicas? Un asunto relevante. Aditivos alimentarios como contaminantes*. En Seventh International Alumni Seminar Green Engineering / *Séptimo Seminario Internacional de Ex-Becarios de Alemania Ingeniería Verde*. DAAD y Facultad de Química, UNAM. Agosto 05, México D.F., México.
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. (2014). Aditivos: Negocios a la moda. Mejoramiento de la Parte 2. Edulcorantes y aditivos. *Revista ATAM*. 26(1):6-11 (2013). *VirtualPro (Colombia)*. 154,(3). Tercera entrega. ISSN 1900-6241.
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. (2013). Aditivos: Negocios a la moda. Parte 2. Edulcorantes y aditivos. *Revista ATAM*. 26(1):6-11. ISSN 2007-610X.
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. (2012). Aditivos: Negocios a la moda. Parte 1. Edulcorantes. *Revista ATAM*. 25(4):23-28. ISSN 2007-610X.
- Dyer, J., Daly, K., Salmon, K.S.H., Arora, D.K., Kokrashvili, Z., Margolskee, R.F., Shirazi-Beechey, S.P. (2007). Intestinal glucose sensing and regulation of intestinal glucose absorption. *Biochem. Soc. Trans.* 35(5):1191-1194.
- ENSANUT. (2018). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Recuperado el 17 de febrero del 2018, de <http://ensanut.insp.mx/>
- Envigo. (2018). *Teklad laboratory animal diets*. Recuperado el 14 de enero del 2018, de <http://www.envigo.com/products-services/teklad/laboratory-animal-diets/>
- FAO. (2018). Evaluación de los riesgos asociados con las sustancias químicas (JECFA). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado el 13 de enero del 2018, de <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/es/>

- Fernstrom, J., Munger, S., Sclafani, A., Araujo, I., Roberts, A. (2012). Mechanisms for sweetness. *The Journal of Nutrition*. 142:1134S–1141S.
- Figlewicz, D., Ioannou, G., Bennet, J., Kittleson, S., Savard, C. Roth, C. (2009). Effect of moderate intake of sweeteners on metabolic health in the rat. *Journal Physiology & Behavior*. 98:618-624.
- Fiorelini, B., Alves, L., Gimenes de Alcantara, R., Pitol D., Caetano, F. (2014). Effects of biodegradable detergents in the accumulation of lipofuscine (age pigment) in gill and liver of two neotropical fish species. *International Journal of Morphology*. 32(3):773-781.
- FDA. (2017). ¿Qué hace la FDA? Food and Drug Administration. Recuperado el 13 de enero del 2018, de [www.fda.gov/AboutFDA/Transparency/Basics/EnEspañol/ucm196467.htm](http://www.fda.gov/AboutFDA/Transparency/Basics/EnEspañol/ucm196467.htm)
- Flavors (2004) Food Chemistry. Recuperado el 30 de mayo del 2018, de [https://www.courses.psu.edu/fd\\_sc/fd\\_sc400\\_jnc3/small/flavor.htm](https://www.courses.psu.edu/fd_sc/fd_sc400_jnc3/small/flavor.htm)
- Fortoul, T., Sánchez, I., López, I., Bizarro, P., Naufal, I., Cruz, T., Zepeda, A. (2018). La célula: su estructura y función. Recuperado el 13 de enero del 2018, de <http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/libros/pdfs/histologica17-21.pdf>
- Frühbeck, G., Diez, C., Gil, M. (2004). Fundus functionality and ghrelin concentrations after bariatric surgery. *The New England Journal of Medicine*. 350(3):308-309. *To the Editor*. University of Navarra, 31008 Pamplona, España. [gfruhbeck@unav.es](mailto:gfruhbeck@unav.es). Recuperado el 10 de mayo de 2018 de [nejm.org: https://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM200401153500323](https://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM200401153500323)
- Gaby, AR. (2005). Adverse effects of dietary fructose. *Alternat. Med. Rev.* 10(4):294-306.
- García, J. M., Casado, M., García, J. (2013). Una visión global y actual de los edulcorantes: Aspectos de regulación. *Nutrición Hospitalaria*. 28(4):17-31.
- Giezenaar, C., Trahair, L., Luscombe-March, N., Hausken, T., Stanbfield, S., Jones, K., Lange, K., Horowitz, M., Shapman, I., Soenen, S. (2017). Effects of randomized whey-protein loads on energy intake, appetite, gastric emptying, and plasma gut-hormone concentrations in older men and women. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 106:865-877.
- Gnanapavan, S., Kola, B., Bustin, SA. (2002). The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *Journal Clinical Endocrinology Metabolism*. 87:2988

- Gómez, D., Hernández, G., Rivera, J., Serrano, R., Abbate, M., Acosta, L., Paoli, M. (2017). Adiposidad visceral, patogenia y medición. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*. 15 (2): 70-77.
- Guido, D., Perna, S., Carrai, M., Barale, R., Grassi M., Rondanelli, M. (2016). Multidimensional evaluation of endogenous and health factors affecting food preferences, taste and smell perception. *Journal Nutrition Health Aging*. 20(10):971-981.
- Guvenc, M., Nilay, A., Yilmaz, O., Tuzcu, M. (2017). Effect of resveratrol on fatty acid compositions and lipophilic vitamins of fructose induced non alcoholic fatty liver. *Pakistan Journal Zool*. 49(6):2103-2111.
- Hansel, D., Kane, C., Paner, G., Chang, S. (2016). *The kidney. A comprehensive guide to pathologic diagnosis and management*. Springer. Pp. 3-7. New York. EE.UU.
- Heredia, F., Campos, R., Giraldo, L., García, K. (2015). Serum levels of ghrelin, growth hormone, and insulin during growth of cattle under tropical conditions. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 10(1). ISSN: 1900-9607. <http://www.scielo.org.co/pdf/cmzv/v10n1/v10n1a6.pdf>
- Hur, K.Y., Lee, M-S. (2015). Gut microbiota and metabolic disorders. *Diabetes & Metab. J*. 39(3):198-203.
- Izquierdo, J. (2013). Patrón de consumo e ingestas recomendadas de azúcar. *Nutrición Hospitalaria*. 28(4):32-39.
- Jagua, A., Marín, R., Granados, L. Ávila, V. (2008). Insulina cerebral. *Colombia Médica*. 39(1):107-116.
- Janssens, S., Ciapaite, J., Wolters, J., A van Riel, N., Nicolay, K., Prompers, J. (2017). An in vivo magnetic resonance spectroscopy study of the effects of caloric and non-caloric sweeteners on liver lipid metabolism in rats. *Nutrients*. 9:476-496.
- Jayasinghe, S., Kruger, R., Walsh, D., Cao, G., Rivers, S., Richter, M., Breier, B. (2017). Is sweet taste perception associated with sweet food liking and intake? *Nutrients*. 9:2-19.
- Johnson, J.R., Segal, S.M., Sautin, Y., Nakagawa, T., Feig, I.D., Kang, D., Gersch, S.M., Benner, S., Sánchez-Lozada, L. (2007). Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr*. 86:899-906.

- Johnson, J.R., Perez-Pozo, S.E., Sautin, Y.Y., Manitius, J., Sanchez-Lozada, L.G., Feig, D.I., Shafiu, M., Segal, M., Glasscock, R.J., Shimada, M., Roncal, C., Nakagawa, T. (2009). Hypothesis: Could excessive fructose intake and uric acid cause type 2 diabetes? *Endocrine Reviews*. 30(1):96-116.
- Johnson, J.R., Sánchez-Lozada, L.G., Nakagawa, T. (2010). The effect of fructose on renal biology and disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 21(12):2036-2039.
- Jürgens, H., Haass, W., Castañeda, T.R., Schürmann, A., Koebnick, C., Dombrowski, F., Otto, B., Nawrocki, A.R., Scherer, P.E., Spranger, J., Ristow, M., Joost, G.H., Havel, P.J., Tschöp, M.H. (2005). Consuming fructose sweetened beverages increases body adiposity in mice. *Obes. Res.* 13(7):1146-1156.
- King, M. (2015). Metabolismo del colesterol. Recuperado el 20 de marzo del 2018, de <https://themedicalbiochemistrypage.org/es/cholesterol-sp.php>
- Kumar, A. (2015). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease*. Novena edición. Pp. 431-436. Philadelphia, EE.UU.
- Laboratorio de ensayos biológicos. (2014). Recuperado el 18 de abril del 2018 en <http://lebi.ucr.ac.cr/index.php/es/2-uncategorised/4-wistar-hannover>.
- Lakkaraju, A., Finnemann, S., Rodriguez-Boulan, E. (2007). The lipofuscin fluorophore A2E perturbs cholesterol metabolism in retinal pigment epithelial cells. *PNAS*. 15(31):11026-11031.
- Li, L., Zhao, Z., Xin, L., Chen, Y., Yang, S., Li, K. (2015). A long-term high-fat/high-sucrose diet promotes kidney lipid deposition and causes apoptosis and glomerular hypertrophy in Bama minipigs. *PLoS ONE*. 10(11):1-16.
- Lorenzoni, G., Azzolina, D., Gafare, C. E., Gregori, D. Lobjeois, E. (2017). Eating patterns in Mexico and obesity in children: Results from the NutriRun project. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 67:82-90.
- Mace, O.J., Affleck, J., Patel, N., Kellett, G.L. (2007). Sweet taste receptors in rat small intestine stimulate glucose absorption through apical GLUT2. *J. Physiol.* 582(1):379-392.
- Malik, V., Popkin, B., Bray, G., Despres, J., Hu, F. (2010). Sugar-sweetened beverages, obesity, type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease risk. *Circulation*. 121:1356-1364
- Martínez, C., González, E., García, R., Salas, G., Constantino-Casas, F., Macías, L., Gracia, I., Tovar, C. y 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. (2006). Remodelación cardíaca e inflamación. *Archivos de Cardiología en México*. 76(4):58-66.
- Martínez-Calleja, J.J. (2017). Determinación de los principales glucósidos de esteviol presentes en las hojas de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni mediante un método por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR). Tesis de Licenciatura de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Mayo 08.
- Martínez-Tinajero, C., González-Filomeno, E., García-Gómez, R.S., Constantino-Casas, F., Gracia-Mora, I., Durán-de-Bazúa, C. (2007). Riesgos sobre la ingesta crónica de algunos edulcorantes naturales. *Bebidas Mexicanas*. 16(4):12-14, 16-20, 22.
- Melo, R., Cuamatzi, O. (2007). *Bioquímica de los procesos metabólicos*. 2ª edición. Editorial Reverté. Pp. 58-62. Buenos Aires, Argentina.
- Méndez, N., Uribe, M. (2002). *Obesidad. Epidemiología, fisiopatología y manifestaciones clínicas*. El Manual Moderno. Pp. 55-63. México.
- Méndez, N., Uribe, M. (2013). *Obesidad. Conceptos clínicos y terapéuticos*. 3ª edición. Mc Graw Hill. Pp.: 42-43. México.
- Mendivil, C., Sierra, I. (2005). Acción insulínica y resistencia a la insulina: aspectos moleculares. *Revista Facultad de Medicina Nacional de Colombia*. 53(4):235-243.
- 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 en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. Facultad de Química. UNAM. Defensa: Marzo 14. México.
- Mendoza-Pérez, S., García-Gómez, R.S., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. (2017). Glúcidos y edulcorantes artificiales como contaminantes en la dieta. Un estudio de caso para el programa de apoyo a proyectos para la innovación y mejoramiento de la enseñanza de la UNAM / *Glucids and artificial sweeteners as pollutants in the diet. A case of study for the program for support to projects for innovation and improvement of teaching at UNAM*. **RD-ICUAP**. 3(1):1-15. ISSN: 2448-5829 (Online)
- Mitsutomi, K., Masaki, T., Shimasaki, T., Goto, K., Chiba, S., Kakuma, T., Shibata, H. (2014). Effects of a nonnutritive sweetener on body adiposity and energy metabolism in mice with diet-induced obesity. *Journal of Metabolism: Clinical and Experimental*. 63:69-78.

- Mobasheri, A., Bondy, C., Moley, K., Mendes, A., Rosa, S., Richardson, S., Hoyland, J., Barrett-Jolley, R., Shakibaei, M. (2008). *Facilitative glucose transporters in articular chondrocytes*. Springer. Pp. 3-5. Berlin, RFA.
- Mock, K., Lateef, S., Benedito, V., Tou, J. (2016). High-fructose corn syrup-55 consumption alters hepatic lipid metabolism and promotes triglyceride accumulation. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 39:32-39.
- Montalvo, A. C. (2010). Técnica histológica. Recuperado el 13 de enero del 2018, de <http://histologiaunam.mx/>
- Montvilo, R. K. (2013). *Necrosis*. Magill's Medical Guide (Online Edition). Recuperado el 13 de febrero del 2018, de <http://eds.b.ebscohost.com.pbidi.unam.mx:8080/eds/>
- Morgado, V.E, Drent, M.L., Klok, M.D. (2008). Ghrelin: A regulatory hormone of food intake and body weight. *Revista Médica. Universidad Veracruzana*. 8(2):34-40.
- Msagati, T.A.M. (2013). *Chemistry of food additives and preservatives*. Wiley-Blackwell. Ch. 4. Sweeteners. Oxford.
- Narayanaswamy, R., Iyer, V., Khare, P., Bodziak, M., Badgett, D., Zivadinov, R., Weinstock-Guttman, B., Rideout, T., Ramanathan, M., Browne, M. (2015). Simultaneous determination of oxysterols, cholesterol and 25-hydroxy-vitamin D3 in human plasma by LC-UV-MS. *PLoS ONE*. 10(4):1-15.
- Navarro, M. (2012). *Aspectos bromatológicos y toxicológicos de los edulcorantes*. Ed. Díaz de Santos. Pp. 476-485. Madrid, España.
- Navarro-del-Cabo, S. (2016). La microbiota intestinal, un nuevo factor para prevenir la obesidad y la diabetes. Tesis de grado de enfermería. Escuela Universitaria de Enfermería, Universidad de Cantabria. 2-34. Santander, España.
- OMS. (2018a). Temas de Salud. Diabetes. Organización Mundial de la Salud. Recuperado el 5 de febrero del 2018, de [http://www.who.int/topics/diabetes\\_mellitus/es/](http://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/es/)
- OMS. (2018b). Inactividad física: un problema de salud pública mundial. Organización Mundial de la Salud. Recuperado el 13 de enero del 2018 de [http://www.who.int/dietphysicalactivity/factsheet\\_inactivity/es/](http://www.who.int/dietphysicalactivity/factsheet_inactivity/es/)
- Osorio I., Salceda R. (2012). Control hormonal de la homeostasis energética: De la célula al cerebro. *REB*. 31(2):41-48.

- Palmnäs, M., Cowan, T., Bomhof, M., Su, J., Reimer, R., Vogel H., Hittel, D., Shearer, J. (2014). Low-Dose aspartame consumption differentially affects gut microbiota-host metabolic interactions in the diet induced obese rat. *PLoS ONE*. 9(10):1-10.
- Peña, A., Arroyo, A., Gómez, A., Tapia, R. (2004). *Bioquímica*. Editorial Limusa. 2a edición. Pp. 277-278. México.
- Qiu, S., Wang, J. (2017). The prediction of food additives in the fruit juices based on electronic nose with chemometrics. *Food Chemistry*. 230:208-214.
- RAE. (2018a). *Definiciones: Agua*. Real Academia Española. Recuperado el 5 de febrero del 2018, de <http://dle.rae.es/?id=1BKpQj3>.
- RAE. (2018b). *Definiciones: Aserto*. Real Academia Española. Recuperado el 5 de febrero del 2018, de <http://dle.rae.es/?id=3yRJkEV>.
- RAE. (2018c). *Definiciones: Dejo*. Real Academia Española. Recuperado el 5 de febrero del 2018, de <http://dle.rae.es/?id=C5p0kqw>
- RAE. (2018d). *Definiciones: Espécimen*. Real Academia Española. Recuperado el 5 de febrero del 2018, <http://dle.rae.es/?id=GWw9nWk>.
- RAE. (2018e). *Definiciones: Preservante*. Real Academia Española. Recuperado el 5 de febrero del 2018, de <http://dle.rae.es/?id=APRnpip>.
- RAE. (2018f). *Definiciones: Secretar*. Real Academia Española. Recuperado el 5 de febrero del 2018, de <http://dle.rae.es/?id=XP3LRSw>.
- RAE. (2018g). *Definiciones: Edulcorar*. Real Academia Española. Recuperado el 5 de febrero del 2018, de <http://dle.rae.es/?id=EOOfs0A>.
- Red de Salud de Cuba (s.f). Anatomía, fisiología y fisiopatología de la circulación portal y esofágica. Recuperado el 02 de enero del 2018 de <http://www.sld.cu>
- Riveros, J., Parada, A., Pettinelli, P. (2014). Consumo de fructosa y sus implicaciones para la salud: Malabsorción de fructosa e hígado graso no alcohólico. *Nutrición Hospitalaria*. 29(3):491-499. Recuperado el 12 de febrero del 2018, de <https://dx.doi.org/10.3305/NH.2014.29.3.7178>.
- Romero, A. (2007). Polipéptido insulino-trópico dependiente de glucosa y péptido semejante al glucagón tipo 1: Acciones fisiológicas e implicaciones en la diabetes tipo 2 y la obesidad. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 15(3):156-164.

- Rosado, E., Monteiro, J., Chai, V., Lago, M. (2006). Efecto de la leptina en el tratamiento de la obesidad e influencia de la dieta en la secreción y acción de la hormona. *Nutrición Hospitalaria*. 21(6):686-693.
- Ross, M., Pawlina, W. (2008). *Histología: Texto y atlas a color con biología celular y molecular*. 5ª edición. Pp. 208-227. Buenos Aires, Argentina.
- Sánchez, J. (2005). Papel fisiológico de la leptina. *Colombia Médica*.36 (1):50-59.
- Sánchez, M. (2014). Edulcorantes: Utilización y aprovechamiento en diferentes procesos de la industria alimentaria. Tesina de licenciatura en Química de Alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma del Estado de México UAEM. Enero 14, México.
- Sánchez, A., Gil, A. (2001). Metabolismo lipídico tisular. En *Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición*. Capítulo 11. Editorial Panamericana. Pp. 280-281. México.
- Sandritter, W., Thomas, C. (1979). *Histopatología. Manual y atlas para estudiantes y médicos*. Científico-Médica. Pp. 89, 96. Barcelona, España.
- Schiffman y Rother, (2013). Sucralose, a synthetic organochlorine sweetener: overview of biological issues. *Journal Toxicology Enviromental Health*. 16(7):399-415.
- Sengupta, P.(2013). .The Laboratory rat: Relating its age with human´s. *International Journal of Preventive Medicine*.4(6):624-630
- Serway, R.A., Jewett Jr., J.W. (2005). *Física para ciencias e ingenierías*. 6ª edición. Thomson. Pp. 1-5. México.
- Shamim, A., Syed, I. (2016). Obesity, A practical guide. *Springer International*. Pp. 1-88. New York, EE.UU.
- Shimony, M., Schliep, K., Schisterman, E., Ahrens, K., Sjaarda, L., Rotman, Y., Perkins, N., Pollack, A., Wactawski, J., Mumford, S. (2015). The relationship between sugar-sweetened beverages and liver enzymes among healthy premenopausal women: A prospective cohort study. *European Journal Nutrition*. 55:569-576.
- Shuman, R.B. (2013). *Metabolism*. Salem Press *Encyclopedia of Science*. Recuperado el 29 de enero del 2018 de <http://eds.b.ebscohost.com.pbidi.unam.mx:8080/eds/>

- Silva, D. (2009). Myocardial fibrosis prevention and accumulation of lipofuscin in myocytes cardiac of mdx mice. Master thesis. Universidade Estadual de Campinas. Brasil.
- Simon, B.R., Parlee, S., Learman, B., Mori, H., Scheller, E., Cawthorn, W., Niang, X., Gallagher, K., Tyrberg, B., Assadi-Porter, F., Evans, C., McDougald, O. (2013). Artificial sweeteners stimulate adipogenesis and suppress lipolysis independently of sweet taste receptors. *The Journal of Biological Chemistry*. 288(45): 32475–32489.
- Soffritti, M., Padovani, M., Tibaldi, E., Falcioni, L., Manservigi, F., Lauriola, M., Bua, F., Manservigi, M., Belpoggi, F. (2016). Sucralose administered in feed, beginning prenatally through lifespan, induces hematopoietic neoplasias in male Swiss mice. *International Journal of Occupational and Environmental Health*. 22(1):7-17.
- Stetka, B. (2016). How artificial sweeteners may cause us to eat more. *Scientific American*. Recuperado el 28 de mayo del 2018 de <https://www.scientificamerican.com/article/how-artificial-sweeteners-may-cause-us-to-eat-more/>
- Stevens, A., Lowe, J., Young, B. (2003). *Histopatología básica*. Elsevier. Pp. 245-253. Madrid, España.
- Suez, J., Korem, T., Zilberman-Schapira, G., Segal, E., Elinav, E. (2015). Non-caloric artificial sweeteners and the microbiome: Findings and challenges. *Gut Microbes*. 6(2):149-155. <http://dx.doi.org/10.1080/19490976.2015.1017700>
- Suez, J., Koreem, T.; Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C., Maza, O., Israeli, D., Zmora, N., Gilad, S., Weinberger, A., Kuperman, Y., Harmelin, A., Kolodkin-Gal, I., Shapiro, H., Halpern, Z., Segal, E., Elinav, E. (2014). Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*. 514:181-186.
- Tappy, L., Lê, K.-A. (2015). Health effects of fructose and fructose-containing caloric sweeteners: Where do we stand 10 years after the initial whistle blowings? *Curr. Diab. Rep.* 15:54. doi: 10.1007/s11892-015-0627-0), 1-12.
- Teff, K.L., Elliott, S.S., Tschöp, M., Kieffer, T.J., Rader, D., Heiman, M., Townsend, R.R., Keim, N.L., D'Alessio, D., Havel, P.J. (2004). Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89: 2963-2972
- Thivierge, B. (2014). Public health. Salem Press Encyclopedia of Health. Recuperado el 29 de enero del 2018 de <http://eds.b.ebscohost.com.pbidi.unam.mx:8080/eds/>

- Toyoda, K., Suzuki, Y., Muta, K., Masuyama, T., Kakimoto, K., Kobayashi, A., Shoda, T., Sugai, S. (2018) High fructose diet feeding accelerates diabetic nephropathy in spontaneously diabetic torii (SDT) rats. *Journal of Toxicological Sciences*. 43(1):45-48.
- UCSF. (2018). Diabetes Education Online. University of California San Francisco Diabetes Teaching Center. Blood sugar and other hormones. Consultado el 26 de abril de 2018 en <https://dtc.ucsf.edu/types-of-diabetes/type1/understanding-type-1-diabetes/how-the-body-processes-sugar/blood-sugar-other-hormones/>
- UNICEF. (2017). El doble reto de la malnutrición y la obesidad. Fondo Internacional para Emergencias de las Naciones Unidas para la Infancia (*United Nations International Children's Emergency Fund*, por sus siglas en inglés). Recuperado el 26 de diciembre del 2017, de <https://www.unicef.org/mexico/spanish/17047.html>
- UNICEF. (2018). La labor de UNICEF. Recuperado el 11 de febrero del 2018 de <https://www.unicef.org/es/qu%C3%A9-hacemos>
- Valencia, M.P., Ancer, R.J. (2014). *Patología*. McGraw-Hill Interamericana. Pp. 17-18. México.
- Vázquez-Contreras, E. (2003). El hígado y los carbohidratos. Recuperado el 01 de enero del 2018 de <http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/higado.html>
- Venado, A., Moreno, J., Rodríguez, M., López, M. (2016). Insuficiencia renal crónica. Recuperado el 06 de enero del 2018, de [http://www.facmed.unam.mx/sms/temas/2009/02\\_feb\\_2k9.pdf](http://www.facmed.unam.mx/sms/temas/2009/02_feb_2k9.pdf)
- Wang, Q., Lin, Y., Zhang, L., Wilson, Y., Oyston, L., Cotterell, J., Qi, Y., Khuong, T., Bakhshi, N., Planchenault, Y., Browman, T., Lau, M., Cole, T., Wong, A., Simpson, S., Cole, A., Penninger, J., Herzog, H., Neely, G. (2016). Sucralose promotes food intake through NPY and a neuronal fasting response. *Cell Metabolism*. 24:75-90.
- Wylie-Rosett, J., Segal-Isaacson, C.J., Segal-Isaacs, A. (2004). Carbohydrates and increases in obesity: Does the type of carbohydrate make a difference? *Obes. Res.* 12:124S-129S.
- Zhang, J., Wang, Q., Zhang, Y., Wu, W., Zhang, H. (2017). Role of peptide YY and glucose-dependent insulinotropic polypeptide in anorexia induction by trichothecenes T-2 toxin, HT-2 toxin, diacetoxyscirpenol, and neosolaniol. *Toxicological Sciences*. 159(1):203-210.

- Zimmet, P., Alberti, K.G.M.M., Serrano-Ríos, M. (2005). Una nueva definición mundial del síndrome metabólico propuesta por la Federación Internacional de Diabetes: Fundamento y resultados. *Revista Española de Cardiología*. 58(12):1371-1376.