



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

**EFFECTO DEL CONSUMO CRÓNICO DE EDULCORANTES
SOBRE LOS NIVELES DE ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ÁCIDO
GRASO SINTASA (*FAS*) EN TEJIDO HEPÁTICO DE MODELOS
ANIMALES**

TESIS

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

PRESENTA:

DIANA LAURA ROSAS AGUILAR

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2022





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. Agustín Reyo Herrera
SECRETARIO: M en C. 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:

- LABORATORIOS E-301, E-302, E-303, CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.
- UNIDAD DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL (UNEXA), CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

ASESORA DEL TEMA:

Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

SUPERVISOR TÉCNICO:

M en C. Rolando Salvador García Gómez

SUSTENTANTE:

Diana Laura Rosas Aguilar

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

Diana Laura Rosas Aguilar

RECONOCIMIENTOS

Al proyecto PAPIIT IN217619 de la DGAPA de la UNAM “Efecto del consumo de edulcorantes sobre la actividad de las enzimas reguladoras de la glucólisis y lipogénesis en extractos de hepatocitos y sus implicaciones metabólicas sobre el exceso de masa corporal y la obesidad” por el apoyo recibido para la adquisición de los materiales y reactivos conducentes para la realización de esta tesis. Asimismo, se recibió apoyo de la DGAPA de la UNAM mediante los proyectos PAPIME Claves EN-103704, PE-101709 y PE-1005-14 y del Programa de Apoyo de Investigación y el Posgrado de la Facultad de Química de la UNAM (PAIP) Claves 50009065 y 50009067 para los materiales y equipos pequeños para la innovación en la docencia (asignatura Estancia Estudiantil).

A la Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa por su sabia orientación y apoyo a lo largo de este trayecto.

Al Maestro Rolando García Gómez y al Dr. M.C. Samuel Mendoza por su gran apoyo y supervisión técnica recibidos durante la elaboración de esta tesis y su gran amistad.

Al personal de la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA) del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM por su apoyo incondicional en todas las fases de investigación, así como al personal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, especialmente al M. en C. Gerardo Salas.

Al personal académico, administrativo y operativo de los Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental por el apoyo brindado.

A los honorables miembros del jurado revisor por sus valiosas aportaciones a este documento.

ÍNDICE

	Página
GLOSARIO	XI
RESUMEN	XVI
CAPÍTULO 1. PROBLEMÁTICA	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. Justificación	3
1.3. Hipótesis	3
1.4. OBJETIVOS	3
1.4.1. Objetivo general	3
1.4.2. Objetivos particulares	4
CAPÍTULO 2. FUNDAMENTOS	5
2.1. Obesidad y exceso de masa corporal	5
2.2. Edulcorantes	7
2.3. Edulcorantes no nutritivos evaluados	10
2.3.1. Acesulfame de potasio	10
2.3.2. Mezcla comercial aspartame:acesulfame K	10
2.3.3. Sacarina	11
2.3.4. Sucralosa	12
2.4. Edulcorantes nutritivos evaluados	13
2.4.1. Sacarosa	13
2.4.2. Glucosa	13
2.4.3. Fructosa	14
2.5. Efecto saciador de edulcorantes no nutritivos y naturales	15
2.6. Lipogénesis <i>de novo</i>	17
2.7. Ácido graso sintasa (<i>FAS</i>)	20
2.8. Hígado graso no alcohólico	21
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA	23
3.1. Desarrollo experimental	23
3.2. Estrategia experimental	24
3.3. Eutanasia	24
3.4. Extracción de proteínas	25
3.5. Pruebas bioquímicas	25
3.5.1. Cuantificación de proteínas	25
3.5.2. Actividad enzimática de la ácido graso sintasa (<i>FAS</i>)	26
3.6. Análisis estadístico	28

	Página
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1. Análisis de la masa corporal a los 170 días de la ingesta de edulcorantes	30
4.2. Análisis de la masa de hígado a los 170 días de la ingesta de edulcorantes	33
4.3. Análisis de la proporción entre la masa del hígado y la masa corporal de la rata	36
4.4. Análisis de la actividad enzimática de la ácido graso sintasa (<i>FAS</i>) en el extracto crudo del tejido hepático.	40
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	47
5.1. Conclusiones	47
5.2. Recomendaciones	48
ANEXOS	50
ANEXO A Cálculos de <i>FAS</i> para los grupos en estudio (valores de actividad)	50
ANEXO B Análisis estadísticos	58
ANEXO C Disposición de residuos producidos en esta investigación	65
BIBLIOGRAFÍA	67
ÍNDICE DE TABLAS	
Tabla 4.1. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa corporal a los 170 días de la ingesta de edulcorantes	30
Tabla 4.2. Pruebas de rangos múltiples para la masa corporal por sexo	31
Tabla 4.3. Tabla de medias de mínimos cuadrados para la masa corporal con intervalos de confianza del 95.0%	31
Tabla 4.4. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa corporal de las ratas macho tras 170 días de ingesta de edulcorantes	32
Tabla 4.5. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa corporal de las ratas hembra tras 170 días de ingesta de edulcorantes	32
Tabla 4.6. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa del hígado a los 170 días de la ingesta de edulcorantes	33
Tabla 4.7. Pruebas de rangos múltiples para la masa de los hígados por edulcorante	34
Tabla 4.8. Pruebas de rangos múltiples para la masa de hígado por sexo	34
Tabla 4.9. Análisis de varianza, ANDEVA, para la masa de los hígados de las ratas macho por grupo de edulcorante	34
Tabla 4.10. Pruebas de rangos múltiples para las masas de hígados de las ratas macho por grupo de edulcorante	35

	Página
Tabla 4.11.	Análisis de varianza, ANDEVA, para masa de hígados de ratas hembra por grupo de edulcorante 35
Tabla 4.12.	Resumen estadístico para masa de hígado de ratas hembra por grupo de edulcorante 36
Tabla 4.13.	Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa de los hígados en proporción con su masa corporal a los 170 días de la ingesta de edulcorantes 36
Tabla 4.14.	Pruebas de rangos múltiples para la masa de hígado en proporción con su masa corporal por sexo 37
Tabla 4.15.	Pruebas de rangos múltiples para la masa de hígado en proporción con la masa corporal por edulcorante 37
Tabla 4.16.	Análisis de varianza, ANDEVA, para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas hembra por grupo de edulcorante 38
Tabla 4.17.	Pruebas de rangos múltiples para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas hembra por grupo de edulcorante 39
Tabla 4.18.	Análisis de varianza, ANDEVA, para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas macho por grupo de edulcorante 40
Tabla 4.19.	Análisis de varianza ANDEVA de una vía para los niveles de actividad enzimática (mU/mg) específica de la <i>FAS</i> de los extractos hepáticos de las ratas macho 42
Tabla 4.20.	Media por grupo de la actividad específica (mU/mg) de la sintasa de ácidos grasos (<i>FAS</i>) para las ratas macho a los 160 días 42
Tabla 4.21.	Análisis de varianza ANDEVA de una vía para los niveles de actividad enzimática (mU/mg) específica de la <i>FAS</i> de los extractos hepáticos de las ratas hembra 44
Tabla 4.22.	Media por grupo de la actividad específica (mU/mg) de la sintasa de ácidos grasos (<i>FAS</i>) para las ratas hembra a los 160 días 45
Tabla A.1.	Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo control 50
Tabla A.2.	Cálculos <i>FAS</i> para cada rata del grupo control 50
Tabla A.3.	Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo sacarina 51
Tabla A.4.	Cálculos <i>FAS</i> para cada rata del grupo sacarina 51
Tabla A.5.	Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo acesulfame de potasio 52
Tabla A.6.	Cálculos <i>FAS</i> para cada rata del grupo acesulfame de potasio 52
Tabla A.7.	Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo sucralosa 53
Tabla A.8.	Cálculos <i>FAS</i> para cada rata del grupo sucralosa 53
Tabla A.9.	Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo glucosa 54

		Página
Tabla A.10.	Cálculos FAS para cada rata del grupo glucosa	54
Tabla A.11.	Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo fructosa	55
Tabla A.12.	Cálculos FAS para cada rata del grupo fructosa	55
Tabla A.13.	Valores de cada parámetro evaluado para rata del grupo sacarosa	56
Tabla A.14.	Cálculos FAS para cada rata del grupo sacarosa	56
Tabla A.15.	Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo aspartame:acesulfame	57
Tabla A.16.	Cálculos FAS para cada rata del grupo aspartame:acesulfame	57
Tabla B.1.1.	Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa corporal a los 170 días de la ingesta de edulcorantes	58
Tabla B.1.2.	Pruebas de rangos múltiples para la masa corporal por sexo	58
Tabla B.1.3.	Medias por mínimos cuadrados para masa corporal con intervalos de confianza del 95.0%	58
Tabla B.1.4.	Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa corporal de las ratas hembra tras 170 días de ingesta de edulcorantes	58
Tabla B.1.5.	Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa corporal de las ratas macho tras 170 días de ingesta de edulcorantes	58
Tabla B.2.1.	Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa del hígado a los 170 días de la ingesta de edulcorantes	59
Tabla B.2.2.	Pruebas de rangos múltiples para la masa de los hígados por edulcorante	59
Tabla B.2.3.	Resumen estadístico para la masa de los hígados por edulcorante	59
Tabla B.2.4.	Resumen estadístico para masa de hígado de ratas hembra por grupo de edulcorante	59
Tabla B.2.5.	Análisis de varianza, ANDEVA, para masa de hígados de ratas hembra por grupo de edulcorante	60
Tabla B.2.6.	Análisis de varianza, ANDEVA, para masa de hígados de ratas macho por grupo de edulcorante	60
Tabla B.2.7.	Resumen estadístico para masa de hígado de ratas macho por grupo de edulcorante	60
Tabla B.2.8.	Pruebas de rangos múltiples para masa de hígado de ratas macho por grupo de edulcorante	60
Tabla B.3.1.	Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa de los hígados en proporción con su masa corporal a los 170 días de la ingesta de edulcorantes	61
Tabla B.3.2.	Pruebas de rangos múltiples para la masa de hígado en proporción con la masa corporal por edulcorante	61
Tabla B.3.3.	Resumen estadístico para la masa de hígado en proporción con la masa corporal por grupo de edulcorante	61
Tabla B.3.4.	Análisis de varianza, ANDEVA, para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas hembra por grupo de edulcorante	61

	Página	
Tabla B.3.5.	Resumen estadístico para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas hembra por grupo de edulcorante	62
Tabla B.3.6.	Pruebas de rangos múltiples para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas hembra por grupo de edulcorante	62
Tabla B.3.7.	Análisis de varianza, ANDEVA, para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas macho por grupo de edulcorante	62
Tabla B.4.1.	Resumen estadístico para la actividad específica [mU/mg] de FAS en ratas hembra	63
Tabla B.4.2.	Análisis de varianza, ANDEVA, para los niveles de actividad específica [mU/mg] de FAS de las ratas hembra	63
Tabla B.4.3.	Pruebas de rangos múltiples para la actividad específica (mU/mg) de la sintasa de ácidos grasos (FAS) para las ratas hembra a los 160 días	63
Tabla B.4.4.	Resumen estadístico para la actividad específica [mU/mg] de FAS en ratas macho	63
Tabla B.4.5.	Análisis de varianza, ANDEVA, para los niveles de actividad específica [mU/mg] de FAS de las ratas macho	64
Tabla B.4.6.	Pruebas de rangos múltiples para la actividad específica (mU/mg) de la sintasa de ácidos grasos (FAS) para las ratas macho a los 160 días	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1.	Relación multifactorial entre los individuos y los factores ambientales frente a las elecciones de comida y comportamientos saludables (modificada de Anderson et al., 2012, tomada de García-Almeida et al., 2013)	6
Figura 2.2.	Los estímulos dulces son producidos por el azúcar o los edulcorantes sintéticos que no entran en las células gustativas pero activan la cascada de reacción (Martínez y Román, 2002)	7
Figura 2.3.	Interacción funcional entre los factores de transcripción <i>SREBP-1c</i> , <i>ChREBP</i> y <i>LXR</i> en la inducción de la esteatosis hepática (modificada de López-Oliva y Muñoz-Martínez, 2014)	18
Figura 2.4.	Regulación de la lipogénesis en hepatocitos y adipocitos (modificada de Kersten, 2001)	19
Figura 2.5.	Catálisis de la biosíntesis de ácidos grasos, <i>FAS</i> para la producción de palmitato (Bazin y Ferré, 2001)	21
Figura 3.1.	Esquema de bloques de la estrategia experimental	23
Figura 3.2.	Curva patrón por el método de Bradford (Kruger, 2009)	26
Figura 4.1. (1)	Cinética de la actividad enzimática de la ácido graso sintasa de la rata 6 del grupo control	41
Figura 4.1. (2)	Corrección de la oxidación de <i>NADPH</i> en la cinética en ausencia de malonil CoA de la rata hembra 6 del grupo control	41

		Página
Figura 4.2. (A)	Primera pendiente de la cinética de la actividad enzimática de la ácido graso sintasa de la rata 6 del grupo control	41
Figura 4.2. (B)	Primera pendiente de la corrección de la oxidación de <i>NADPH</i> en la cinética en ausencia de malonil CoA	41
Figura C.1.	Diagrama esquemático de la disposición controlada de residuos producidos en esta investigación	65

Nota: Esta tesis usa el punto decimal (DOF, 2009), así como los símbolos % y °C junto al guarismo o letra. Para etc. y et al., abreviaturas de las locuciones latinas *etcétera* y *et altere* no se usarán cursivas por ser su uso común

GLOSARIO

Acesulfame de K	Acesulfame de potasio. Es la sal de potasio del 6- metil -1, 2,3 - oxatiazina - 4 (3 H)-1,2, 2- dióxido. Es 130-220 veces más dulce que el azúcar (Aldrete-Velasco et al., 2017, Durán et al., 2013, García-Almeida et al., 2013)
Ácido graso sintasa	Es una proteína multifuncional que cataliza la síntesis de los ácidos grasos saturados a partir de precursores simples (lipogénesis <i>de novo</i>). El producto principal de la reacción con <i>FAS</i> es el palmitato (C16:0), pero también se pueden producir estearato (C18:0) y ácidos grasos más cortos. Los sustratos de <i>FAS</i> son acetil-CoA, malonil-CoA y NADPH. La acetil-CoA funciona como un cebador para la reacción, mientras que NADPH proporciona equivalentes reductores. El ácido graso se alarga a partir de la acetil-CoA inicial mediante condensaciones repetidas con malonil-CoA, que produce dos carbonos en cada ciclo de condensación. Por tanto, la síntesis de palmitato requiere siete ciclos de adición de malonil-CoA a un cebador de acetil-CoA para producir un ácido graso saturado de 16 carbonos (Jensen-Urstad y Semenkovich, 2012)
ANDEVA	Siglas para análisis de varianza en español. Técnica que permite calcular la probabilidad de encontrar medias muestrales dispares entre sí (Prieto-Valiente y Herranz-Tejedor, 2010)
ANOVA	Siglas en inglés para Análisis de varianza
ACL	ATP-citrato liasa en inglés
ACC	Acetil-Coenzima A carboxilasa
Ad libitum	Sin restricción en latín
cAMP	Adenosin monofosfato cíclico en inglés
AST	Aspartato transaminasa/ Aspartato aminotransferasa/ Transaminasa glutámico-oxalacética
Atmósfera	Aire o estado del aire que rodea un lugar abierto o que está contenido en un lugar cerrado
ATP	Adenosin trifosfato en inglés
AGPAT	1-acilglicerol-3-fosfato O-aciltransferasa en inglés

ChREBP	En inglés <i>Carbohydrate-response element-binding protein</i> , proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos
DGA	Diacilglicerol aciltransferasa en inglés
de novo	Por primera vez, de nuevo en latín
DNL	<i>De novo lipogenesis</i> en inglés
ELOV6	Elongasa de ácidos de cadena larga de la familia 6 en inglés
Esteatosis hepática	También llamado hígado graso no alcohólico, sus siglas en español HGNA. Es una enfermedad hepática grasa no alcohólica. Su prevalencia aumenta con la edad, la obesidad y está fuertemente asociada con la presencia de síndrome metabólico y aumento de la mortalidad cardiovascular y por enfermedades malignas. Se produce por una acumulación de triglicéridos en los hepatocitos relacionada con la resistencia de insulina hepática y muscular (Graffigna et al., 2017)
FAS	Siglas en inglés para ácido graso sintasa
FDA	Siglas para <i>Food and Drug Administration</i> (Oficina de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos)
Fructosa	Es el glúcido con mayor poder edulcorante, es abundante en frutas, miel, sacarosa y el jarabe de maíz al que se le invierte la glucosa a fructosa. A esos jarabes concentrados se les llama jarabes de alta fructosa. Debido a los subsidios del gobierno estadounidense al maíz son edulcorantes de bajo costo utilizados en una gran variedad de alimentos y de bebidas procesados (Plaza-Díaz et al., 2013)
GA3P	Gliceraldehído-3 fosfato en inglés
Glucosa	Es un glúcido reductor que está presente en la mayoría de las frutas y en muchos vegetales. Es abundante como polímero de reserva en los animales (glucógeno) y en las plantas (almidón). La mayor parte de la glucosa está presente como polímero no digestible (celulosa). La glucosa se puede producir a partir de la hidrólisis del almidón por vía enzimática (Plaza-Díaz et al., 2013) o química (Mendoza-Pérez et al., 2017)
GK	Glucoquinasa en inglés
G6PD	Glucosa-6 fosfato deshidrogenasa en inglés
HGNA	Hígado graso no alcohólico

Índice de masa corporal (IMC)	Es un indicador simple de la relación entre la masa y la talla de la persona para identificar las categorías de masa que pueden llevar a problemas de salud. Se utiliza frecuentemente para identificar el exceso de masa corporal (“sobrepeso”) y la obesidad en los adultos. Se calcula dividiendo la masa de una persona en kilogramos por el cuadrado de su talla en metros (kg/m ²) (OMS, 2021). Evidentemente, no discrimina entre género, edad, etc., por lo que su información debe tomarse con cautela y solamente como una primera aproximación y nunca usarse para políticas públicas (Nuttall, 2015)
Lipogénesis	La lipogénesis es un proceso metabólico que ocurre principalmente en el hígado y en el tejido adiposo y es estimulada por una dieta alta en carbohidratos y por la acción de la insulina. La lipogénesis se deriva principalmente de carbohidratos y es un contribuyente relativamente menor a las reservas de lípidos de todo el cuerpo, contribuyendo 1–3% del equilibrio total de grasa en los seres humanos que consumen una dieta típica (Tsiloulis y Watt, 2015)
LPK	Piruvato quinasa hepática en inglés
LXR	Receptor X hepático en inglés
ME	Enzima málica en inglés
mGPAT	Glicerol-3-fosfato aciltransferasa mitocondrial en inglés
Mezcla comercial acesulfame-aspartame	Una combinación de aspartame y acesulfame cuya composición es de 1:2, respectivamente, 350 veces más dulce que el azúcar y un 75% más dulce que sus dos principales componentes por separado (García-Almeida et al., 2013)
NADP⁺	En inglés <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i> . Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma oxidada
NADPH	En inglés <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i> . Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma reducida
NAFLD	Enfermedad del hígado graso no alcohólico en inglés
Obesidad	Acumulación anormal o excesiva de grasa con un índice de masa corporal ≥ 30 kg/m ² (ver IMC). Es una enfermedad crónica caracterizada por el almacenamiento en exceso de tejido adiposo en el organismo, acompañada de alteraciones metabólicas, que predisponen a la presentación de trastornos que deterioran el estado de salud (OMS, 2021)

PAHO	Organización Panamericana de la Salud por sus siglas en inglés
PAP	Fosfatidato fosfatasa en inglés
PFK1,2	Fosfofructoquinasa 1 y 2 en inglés
PGD	6-fosfogluconato deshidrogenasa en inglés
Poder edulcorante	Valor que se obtiene al comparar los edulcorantes por su capacidad de causar dulzor en comparación con la sacarosa (Martínez y Román, 2002)
RIPA	En inglés <i>Radioimmunoprecipitation assay buffer</i> . La solución <i>RIPA</i> es una solución amortiguadora de lisis que extrae proteínas de manera eficaz a partir de células de mamíferos
Sacarina	Sulfamida, cuyo átomo de hidrógeno la hace algo ácida y forma sales fácilmente. La sacarina es aproximadamente 300 veces más dulce que el azúcar, tiene un índice glucémico cero y presenta un gusto metálico en altas concentraciones (Durán et al., 2013; García-Almeida et al., 2013)
Sacarosa	La sacarosa es el endulzante por excelencia de los alimentos, en nuestro paladar lo reconocemos como “dulce”. Está constituida por una molécula de fructosa y otra de glucosa unidas por un enlace glucosídico (Gómez y Palma, 2013)
SCD1	Estearoil coenzima A desaturasa en inglés
SREBP-1	En inglés <i>Sterol regulatory element-binding protein</i> , proteína de unión al elemento de respuesta del esteroil
Sucralosa	Es un compuesto de 1,6-dicloro-1,6 dideoxi-β-D-fructofurano-sil -4-cloro-4-deoxi-αD-galactopiranosido, obtenido por la halogenación selectiva de la molécula de sacarosa. Es 600 veces más dulce que el azúcar (Durán et al., 2013; Schiffman y Rother, 2013)
TAG	Triacilglicerol, triacilglicérido o triglicérido
TCA	Ciclo del ácido tricarbóxico en inglés
USF	Factor estimulador ascendente
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad en inglés

Wistar

Se trata de una línea albina de la rata parda. Fue desarrollada en el Wistar Institute en 1906 para fines de investigación biomédica y se trata de la primera rata empleada como organismo modelo (anteriormente se trabajaba con el ratón). Hoy por hoy, la mitad de las ratas de laboratorio que existen derivan de la población generada por el fisiólogo Henry Donaldson, el administrador Milton J. Greenman y la genetista y embrióloga Helen Dean King (<http://web.archive.org/web/20090802191743/http://www.amphilsoc.org/library/mendel/1998.htm>)

RESUMEN

Los medios de comunicación constantemente se encuentran bombardeando al consumidor sobre el consumo diario de bebidas ‘sin calorías’ conocidas como “bebidas lighth”, argumentando que pueden ser de utilidad para reducir el consumo de energía y así disminuir el riesgo del síndrome metabólico. Sin embargo, su consumo se hace cada vez más habitual y aún no se conocen las repercusiones bioquímicas que estos puedan acarrear a largo plazo. Dado lo anterior, es necesario realizar estudios que permitan dilucidar los posibles efectos metabólicos que puedan ocasionar en seres humanos. En esta investigación se establecieron las bases para conocer si existe una sobreestimulación de la ácido graso sintasa (*FAS* en inglés) con respecto del edulcorante suministrado *ad libitum* y de forma crónica a ratas hembra y macho de la estirpe Wistar. Para ello se empleó como grupo control aquel que únicamente consumió agua potable pura para evaluar la influencia del edulcorante consumido durante la lipogénesis. Se emplearon muestras de tejido hepático provenientes de ratas macho (n=40) y hembra (n=40) de la estirpe HSD:Han Wistar. Todos los roedores se alimentaron con una dieta normal balanceada (Teklad Global® 18s) y se suministraron edulcorantes nutritivos y no nutritivos de manera *ad libitum* durante 170 días de experimentación. Cada grupo contó con n=5 por grupo y sexo. Las concentraciones de los edulcorantes suministrados fueron las siguientes: Sacarosa 10% (m/v), fructosa 7% (m/v), glucosa 14% (m/v), acesulfame de K al 0.05% (m/v), mezcla de acesulfame-aspartame 1.55% (m/v), sucralosa 0.017% (m/v) y sacarina al 0.033% (m/v). Después de los 170 días y realizar una eutanasia humanitaria se comprobó que no hubieron diferencias significativas ($p>0.05$) en los parámetros de ganancia final de masa corporal entre los ocho grupos. Entre los resultados más sobresalientes destacan que los factores sexo y edulcorante tuvieron un efecto estadísticamente significativo sobre la masa del hígado ($p<0.05$) siendo los grupos de fructosa y sacarosa los que dieron las medias significativamente mayores, sin importar el sexo de los especímenes. El análisis de varianza de la proporción de la masa (hígados/masa corporal de las ratas) indicó que los edulcorantes nutritivos: Sacarosa y fructosa fueron los que tuvieron una mayor proporción de masa del hígado con respecto de su masa, por lo que fueron significativamente ($p<0.05$) mayores al grupo control. Para las ratas hembra hubo una diferencia significativa ($p<0.005$) siendo los edulcorantes con una actividad enzimática mayor de *FAS* en los grupos que bebieron edulcorantes nutritivos: Glucosa (80.5 ± 24.9), fructosa (57.3 ± 20.4) y sacarosa (38.1 ± 12.1) con respecto del grupo control. En las ratas machos, hubieron diferencias significativas ($p<0.005$), entre los grupos que bebieron sacarosa (67.3 ± 27.3 mU/mg), sacarina (54.4 ± 22.1 mU/mg) y glucosa (46.6 ± 21.1 mU/mg) ya que presentaron significancias de más del doble de la actividad específica al compararse con el grupo control (7.4 ± 4.5 mU/mg). Con lo anterior se demuestra que la sacarina a pesar de ser un edulcorante no nutritivo incrementa la lipogénesis hepática. En investigaciones futuras se tendrá que indagar si el contenido de contenido adiposo también aumenta, ya que en esta investigación solamente se analizó el tejido hepático de los especímenes bajo estudio.

Palabras clave: Ácido graso sintasa, lipogénesis *de novo*, edulcorantes no nutritivos y nutritivos, masa corporal, tejido hepático, acesulfame K, mezcla comercial acesulfame-aspartame, sacarina, sucralosa, modelos animales, ratas Wistar macho, ratas Wistar hembra

CAPÍTULO 1

PROBLEMÁTICA

1.1. Introducción

El exceso de masa corporal (“sobrepeso”) y la obesidad son enfermedades sistémicas, crónicas y multifactoriales las cuales están reconocidas como uno de los retos más importantes de salud pública, dada su magnitud, la rapidez de su incremento y el efecto negativo que ejercen sobre la salud de la población, especialmente en las últimas dos generaciones de personas (>70 años).

El síndrome metabólico y las enfermedades cardiovasculares se derivan del exceso de masa corporal reduciendo la calidad de vida, aumentando el costo social de la salud (Cecchini et al., 2010). Al igual que otros países a nivel mundial, México se ha visto inmerso en esta epidemia que afecta a millones de adultos, niños y adolescentes (OMS, 2000). La transición nutricional en el mundo ha producido un aumento en la ingesta de alimentos ultra procesados (por su disponibilidad y bajo costo) ricos en grasa, sal y glúcidos simples, erróneamente llamados “azúcares” y, sobre todo, la inclusión de múltiples aditivos químicos de los que no se conocen bien a bien sus efectos en el metabolismo. Asimismo, se han incrementado los hábitos sedentarios (Barrera-Cruz et al., 2013; Softic et al., 2016).

En México y otros países, diferentes estudios (Barquera et al., 2012; Caravalí-Meza et al., 2016; PAHO, 2015; Yoo et al., 2004), han reportado un alto consumo de bebidas endulzadas en la población general, llegando a ser el mayor consumidor en el mundo con 163 litros *per capita* al año (Andreyeva et al., 2011). Lo anterior, según Anderson et al. (2012), es consecuencia de “una relación multifactorial compleja entre los individuos y su entorno, con respecto de las opciones de alimentos y los comportamientos de salud psicobiológica, rodeado de factores culturales y sociales que interactúan con los entornos inmediatos y distales”.

La preferencia por el gusto dulce en el ser humano es innata justamente por la necesidad de energía para realizar todas las funciones corporales, como ocurre con muchos animales y los

endulzantes pueden incrementar el placer de la ingesta de alimentos. Los edulcorantes nutritivos son carbohidratos y proveen energía. En contraste, los edulcorantes no nutritivos o edulcorantes de alta intensidad son productos que pueden ser naturales o sintéticos. Algunos se producen naturalmente en los alimentos, pero se añaden mayormente en el procesamiento de los alimentos o son añadidos por los consumidores antes del consumo cuando son utilizados como endulzantes de sus bebidas (Durán et al., 2013).

Entre 1970-2007 en EE. UU la producción del maíz aumentó casi 40% y al mismo tiempo en 1960 se desarrollaron una gran variedad de subproductos de maíz, incluido el edulcorante de bajo costo conocido como jarabe de maíz, con un alto contenido de fructosa obtenida por inversión de la glucosa y cuya versión moderna tiene una mezcla de fructosa-glucosa. El consumo de alimentos altamente energéticos aumentó durante los últimos 30 años al igual que la ingesta de carne. A partir de 1980 esta tendencia se extendió a México, que se convirtió en un asiduo mercado para los productos de maíz procesado, para los refrescos y para la llamada comida rápida (Sánchez, 2013).

Los edulcorantes de naturaleza diferente al azúcar, según sus fabricantes, apenas se metabolizan y tienen poco o ningún valor energético. Adicionalmente, en términos económicos son mucho más redituables monetariamente para el sector industrial. Por lo tanto, la demanda de estos edulcorantes está aumentando día a día por aquellas personas que quieren disminuir su ingesta energética o que no pueden metabolizar la glucosa como lo son las personas con diabetes y exceso de masa corporal.

En un principio, los edulcorantes no nutritivos fueron utilizados como una estrategia alternativa, dentro del tratamiento dietético debido a su sabor “dulce”, principalmente en la prevención primaria y secundaria de enfermedades como el síndrome metabólico o bien como parte del tratamiento (Bulman et al., 2018).

Sin embargo, su uso ha caído en excesos consumiéndolos de forma cotidiana en una gran cantidad de productos ultraprocesados. Lo anterior, de acuerdo con Swithers et al. (2010), podría dar como resultado que los sabores dulces ya no sirvan como predictores consistentes de las

consecuencias digestivas nutritivas y, por lo tanto, se aumente el apetito y con este el incremento de masa corporal. Es decir, el consumo crónico y excesivo de edulcorantes no nutritivos podría conllevar a un desequilibrio energético provocando un balance positivo de energía debido a que existe una mayor ingesta o un menor gasto de esta (Pajuelo et al., 2013).

1.2. Justificación

Según los medios de comunicación, el uso de edulcorantes no nutritivos, especialmente en bebidas, pueden ser de utilidad para reducir la ingesta de energía y así disminuir el riesgo del síndrome metabólico. Sin embargo, su utilización se hace cada vez más habitual y aún no se saben las repercusiones bioquímicas que esto pueda acarrear a largo plazo, especialmente por la adición combinada de conservadores químicos, colorantes y saborizantes químicos. Por ello, es necesario realizar estudios a largo plazo que permitan dilucidar los posibles efectos metabólicos que puedan ocasionar en seres humanos. En la presente investigación se indagará si existe una sobreestimulación de la ácido graso sintasa (*FAS* en inglés) dependiendo del tipo de edulcorante ingerido suministrado *ad libitum* en ratas hembra y macho de la estirpe Wistar, sin considerar todavía otros aditivos químicos.

1.3. Hipótesis

La relación entre la masa corporal y la masa del hígado, así como de los niveles de la actividad enzimática de la ácido graso sintasa (*FAS*) en los extractos hepáticos dependerá del tipo de edulcorante ingerido y el sexo del espécimen.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del consumo crónico (170 días) de edulcorantes nutritivos y no nutritivos sobre los niveles de actividad de la enzima ácido graso sintasa (*FAS*) en extractos de hepatocitos de ratas macho y hembra de la estirpe Wistar.

1.4.2. Objetivos particulares

- Cuantificar los niveles de actividad enzimática específica de la *FAS* en los extractos de hepatocitos de 80 ratas que consumieron edulcorantes más 20 ratas recién destetadas que no consumieron edulcorantes (basales)
- Determinar si el tipo de edulcorante ingerido es un factor significativo en la relación de masa de hígado/ masa corporal atribuibles
- Relacionar la actividad enzimática de la *FAS* con la masa corporal y la masa del hígado de los especímenes, así como del edulcorante ingerido y del sexo del espécimen
- Identificar si los factores de sexo y edulcorante influyen significativamente entre los niveles de actividad enzimática de la *FAS* mediante un análisis de varianza.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTOS

2.1. Obesidad y exceso de masa corporal

El exceso de masa corporal y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa, enfermedades sistémicas, crónicas y multifactoriales, no exclusivas de los países económicamente desarrollados, que involucran a todos los grupos de edad, de las distintas etnias y de todas las clases sociales (Barrera-Cruz et al., 2013). Se ha recomendado por la Organización Mundial de la Salud el uso de un parámetro simple conocido como Índice de Masa Corporal, IMC que, aunque no es muy preciso, confiable o exacto (Nuttall, 2015), da una idea muy general de la posible problemática de desnutrición o exceso de masa corporal, incluso llegando a la obesidad. En México se ha declarado una emergencia sanitaria por la epidemia de obesidad y diabetes. En las diferentes encuestas en México, las tendencias del exceso de masa corporal y la obesidad usando este índice muestran un incremento constante que ha sido asociado a la prevalencia de esta epidemia. De 1991 a 2000 la obesidad femenina en México pasó de 9.4 a 24.4% usando este parámetro. En 2014 esta epidemia en México ya era de 67.3% en hombres y 69.3% en mujeres y en el 2016, el 72.5% de los adultos presentaron estos padecimientos, también usando este parámetro. Aún cuando desde 1999 se ha observado un incremento en toda la población, éste ha sido mayor entre las mujeres en edad reproductiva y en los residentes de las zonas rurales (Córdova, 2002; Rivera-Dommarco et al., 2018).

Por todo lo anterior, la obesidad se considera una enfermedad compleja y multifactorial, puesto que es el resultado de la interacción entre factores genéticos, conductuales y ambientales que pueden influir en la respuesta individual a la dieta que incluye muchas sustancias químicas adicionales a alimentos y bebidas no alcohólicas procesadas industrialmente y a la actividad física. La obesidad tiende a agregarse en familias, justamente por sus hábitos que no corresponden a los patrones conocidos, siendo altamente dependiente de factores ambientales que pueden ser de carácter inmediato (a nivel individual), intermedio (en el entorno de los individuos) y básicos o estructurales (a nivel macro), y que ocurren en diferentes etapas a lo largo del curso de la vida. La obesidad aumenta el riesgo de padecer otras enfermedades como son la diabetes

mellitus, enfermedad isquémica del corazón, hipertensión, dislipidemias, enfermedades cerebrovasculares y cáncer, las cuales disminuyen la calidad de vida e incrementan el riesgo de muerte prematura (Tejero, 2008).

El exceso de masa corporal y la obesidad son el resultado del consumo de alimentos ultraprocesados con alta densidad energética en la dieta y el consumo elevado de bebidas endulcoradas. Lo anterior resulta en un sobreconsumo pasivo de energía y de sustancias químicas adicionadas a ellos, lo cual contribuye al balance positivo de energía y a los cambios metabólicos, dada la limitada actividad física en la vida sedentaria cotidiana de gran parte de la población, especialmente en niños y adolescentes. Un 26% de las mujeres y un 24% de los hombres consumen más de 50 g de glúcidos simples como sacarosa, glucosa y principalmente fructosa proveniente de algunas de las bebidas endulzadas y de muchos alimentos procesados.

En el esquema propuesto por Anderson et al. (2012) (Fig. 2.1) se muestra la complejidad de una relación de núcleo psicobiológico, rodeado de factores culturales y sociales que interactúan con los entornos inmediatos y distales de los individuos con las opciones de alimentos y comportamiento de salud.

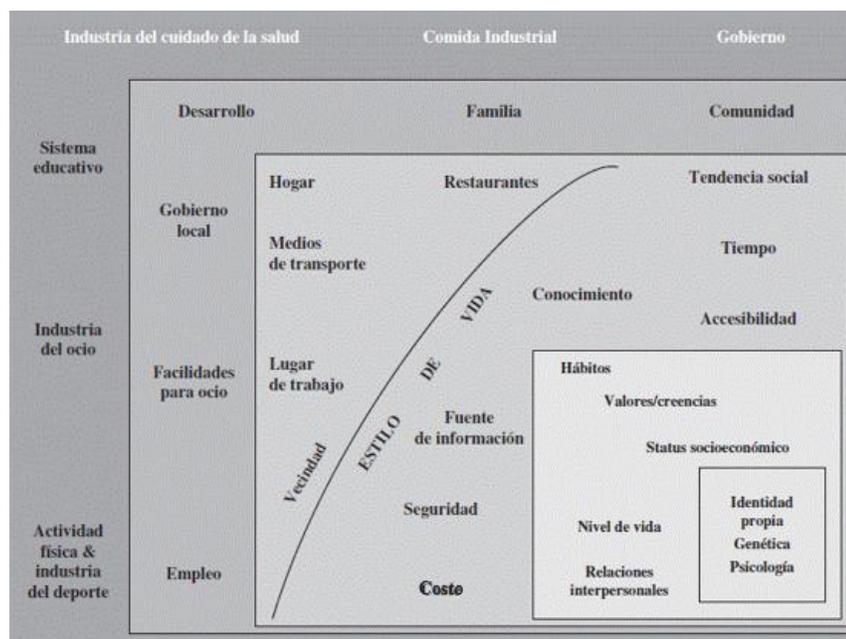


Figura 2.1. Relación multifactorial entre los individuos y los factores ambientales, frente a las elecciones de comida y comportamientos saludables (modificada de Anderson et al., 2012, tomada de García-Almeida et al.; 2013).

Es en la conexión del individuo y el entorno donde se toman decisiones de estilo de vida, de factores biológicos, psicosociales, y sus interacciones, antecede los comportamientos alimentarios y se asocia con la forma en la que el organismo reacciona a estos estímulos.

Explorar la conexión entre los factores biológicos y psicosociales, puede permitir una mejor comprensión de cómo los edulcorantes no nutritivos y otros aditivos químicos afectan la calidad de la dieta. No hay evidencia puntual que afirme que los edulcorantes sean la causa mayor del exceso de masa corporal (Anderson et al., 2012; Durán-Domínguez-de-Bazúa, 2017, 2020).

2.2. Edulcorantes

Las características químicas de los alimentos son estímulos que se perciben en la lengua (Fig. 2.2) cuyos receptores desencadenan una secuencia de reacciones que el cerebro convierte en sensaciones. El gusto es un sentido químico que responde a las sustancias químicas por medio de los receptores de las papilas gustativas que se encuentran en la lengua y el área bucal (Martínez y Román, 2002).

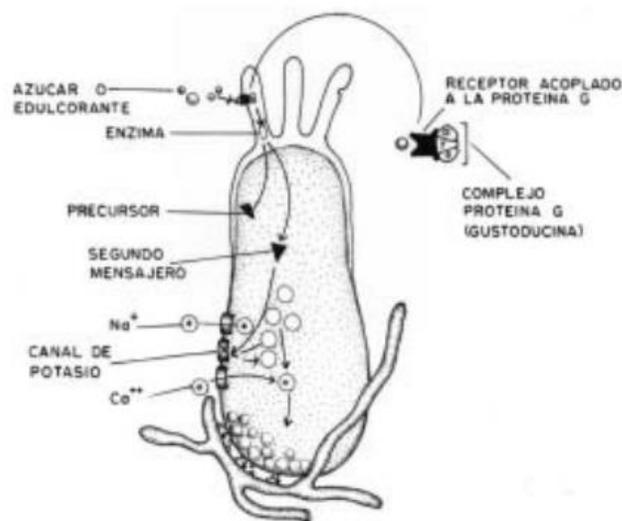


Figura 2.2. Los estímulos dulces son producidos por el azúcar o los edulcorantes sintéticos, que no entran en las células gustativas, pero activan la cascada de reacción (Martínez y Román, 2002)

Uno de los cuatro gustos básicos es el gusto dulce que se asocia habitualmente a compuestos hidrocarbonados, como la sacarosa, el cual es el endulzante por excelencia y el estándar para expresar el dulzor de otros edulcorantes. Por ello, los alimentos dulces han sido muy importantes en la alimentación del ser humano desde tiempos ancestrales, siendo inherentes a su naturaleza, ya que indican una pronta fuente de energía y estimulan el sentido del gusto causando una sensación agradable al consumir los alimentos (Duffy et al., 2003).

El término edulcorante hace referencia a aquel aditivo alimentario que es capaz de dar el efecto dulce con referencia al azúcar y que, habitualmente, aporta menor energía (DuBois y Prakash, 2012). Algunos de ellos son extractos naturales, mientras que otros son sintéticos. En este último caso se les denominan edulcorantes no nutritivos. El empleo de edulcorantes no nutritivos como sustitutos de todo o parte del contenido en glúcidos de comidas y bebidas, ha tenido su máxima expansión en los últimos 50 años (Anderson et al., 2012).

Según Weihrauch y Diehl (2004), el primer edulcorante del cual se tiene registro de su uso fue la miel, la cual fue empleada por griegos y chinos. Posteriormente la miel fue reemplazada por la sacarosa (azúcar de mesa) que se obtuvo de la caña de azúcar.

Como ya se mencionó, después de la segunda guerra mundial, entre 1970-2007, la producción del maíz aumentó casi 40%. Al mismo tiempo en 1960 se desarrollaron una gran variedad de subproductos de maíz, incluido el edulcorante de bajo costo denominado jarabe de maíz, el cual, presenta un alto contenido de fructosa por haber invertido una parte importante de su glucosa y cuya versión moderna tiene una mezcla de fructosa-glucosa. El consumo de alimentos con alta densidad energética aumentó durante los últimos 30 años al igual que la ingesta de carne. A partir de 1980 esta tendencia se extendió a México, que se convirtió en un asiduo mercado para los productos de maíz procesado, como los refrescos y para la denominada comida rápida (Sánchez, 2013).

El primer edulcorante artificial que se sintetizó, en 1879, fue la sacarina. Con el reconocimiento de que la epidemia de obesidad en parte se debe al crecimiento de la industria de las golosinas y de la comida rápida, el interés en encontrar alternativas alimenticias de un supuesto menor

contenido energético ha venido en aumento. Por ello, desde la década de los años 50 del siglo pasado, el uso de edulcorantes no nutritivos ganó auge (Moreno-Martínez et al., 2011).

Los edulcorantes no nutritivos aprobados en México son: Aspartame, acesulfame de potasio, mezcla aspartame-acesulfame, sucralosa, sacarina, glucósidos de esteviol, ciclamatos, alitame y neotame, además de advantame y alulosa. El alitame y neotame, por su altísima intensidad de dulzor, se utilizan casi exclusivamente a nivel industrial (Aldrete-Velasco et al., 2017).

La premisa de los edulcorantes no nutritivos es que, cuando sustituyen a los edulcorantes nutritivos, pueden ayudar a los consumidores a limitar la ingesta de carbohidratos y energía como estrategia para controlar la glucosa en sangre o la masa corporal. Además, para los industriales tienen la ventaja de ser más económicos, por lo que su uso ha aumentado considerablemente desde el descubrimiento de la sacarina.

Los edulcorantes alternativos se producen para ser utilizados en varios productos que van desde galletas hasta refrescos, con el fin de satisfacer a los consumidores, donde los glúcidos convencionales como glucosa, fructosa y sacarosa deben ser reemplazados por alternativas altamente dulces y supuestamente sin los daños que estos compuestos nutritivos causan. Se espera que aumente la demanda mundial de edulcorantes de alta potencia, especialmente con la nueva práctica de combinar diferentes edulcorantes (García-Almeida et al., 2013).

Los edulcorantes se pueden clasificar como nutritivos y no nutritivos dependiendo de si al ser metabolizados por el organismo aportan energía, así como en dos categorías, edulcorantes naturales y sintéticos. El edulcorante natural se puede dividir en edulcorantes que contienen glúcidos y no glúcidos (por la presencia o ausencia de glúcidos simples como la glucosa o la fructosa) (Surana et al., 2006).

Los edulcorantes no nutritivos, incluyen sustancias de varias clases químicas diferentes que interactúan con los receptores del gusto dulce y por lo general superan el dulzor de la sacarosa en un factor de 30 a 13 000 veces. Los edulcorantes nutritivos (por ejemplo, sacarosa, glucosa) son generalmente reconocidos como seguros (*GRAS* por sus siglas en inglés) por la Administración

de Alimentos y Medicamentos (*FDA*). Los edulcorantes nutritivos son fácilmente digeribles, excepto en los casos de anomalías genéticas raras del metabolismo de los carbohidratos como, por ejemplo, la galactosemia, intolerancia hereditaria a la fructosa, etc. (Rumessen, 1992).

A continuación se dará una breve explicación y ejemplos de los edulcorantes nutritivos y no nutritivos manejados en esta investigación.

2.3. Edulcorantes no nutritivos

2.3.1. Acesulfame de potasio

Descubierto por K. Klauss de los Laboratorios Hoesch, en 1967 y aprobado por la *FDA* en 2001. Es un derivado del acetoacético, y es la sal de potasio del 6- metil -1, 2,3 -oxatiazina - 4 (3 H)-1,2, 2- dióxido. Es 130-220 veces más dulce que la sacarosa. En soluciones acuosas con altas concentraciones de acesulfame de K es posible detectar un sabor amargo. Es por este resabio amargo que generalmente se emplea en mezclas con otros edulcorantes como el aspartame, el ciclamato y, más recientemente, con sucralosa (Lawrence, 2003). Es ligeramente soluble en agua, si bien últimamente se han desarrollado formas que permiten la preparación de disoluciones concentradas. Asimismo, es estable al calor y puede combinarse con otros edulcorantes (Lipinski y Hanger, 2011).

El acesulfame de potasio no se metaboliza ni almacena en el cuerpo según sus fabricantes. Es rápidamente absorbido y luego excretado por la orina sin sufrir modificaciones. Frecuentemente, se utiliza en bebidas refrescantes, néctares de fruta, edulcorantes de mesa, productos lácteos, productos horneados, pasta de dientes y productos farmacéuticos (Aldrete-Velasco et al., 2017; Durán et al., 2013; García-Almeida et al., 2013).

2.3.2. Mezcla comercial aspartame:acesulfame de K

La combinación de aspartame y acesulfame cuya composición es de 64-36%, respectivamente, se denominan bajo el código E-962, aunque puede contener hasta un 3% de otras sustancias.

Mantiene un valor nutritivo no apreciable y su poder edulcorante con respecto del sabor dulce de la sacarosa es de 350 veces más que la sacarosa y es un 75% más dulce que sus dos principales componentes por separado (García-Almeida et al., 2013).

El aspartame fue descubierto en el año 1965 por James Slatter. Es un edulcorante artificial compuesto por un metil éster de un dipéptido formado por el ácido L - aspártico y L - fenilalanina. Es 180 y 200 veces más dulce que la sacarosa. Es un dipéptido y como tal, aporta 4 kcal por gramo. Sin embargo, es tan dulce que sólo se necesita una pequeña cantidad y, por consiguiente, su aporte energético se considera no significativo. Debido a que el aspartame contiene fenilalanina, el consumo de éste en las personas que padecen fenilcetonuria está contraindicado. Por esta razón, los productos que contienen aspartame deben indicar en la etiqueta "Fenilcetonúricos: contiene fenilalanina" (Durán et al., 2013; García-Almeida et al., 2013).

El aspartame sigue siendo uno de los edulcorantes de alta intensidad más utilizados y conocidos, gracias, en mayor parte, a su fuerte posicionamiento en los Estados Unidos, su principal productor, el cual, consume el 60% de la demanda global de esta sustancia. Se descompone con el calor y, por lo tanto, no es adecuado para cocinar. Ha desbancado casi por completo a la sacarina como edulcorante más utilizado en las bebidas "light". No obstante, existen grandes controversias sobre su seguridad, aunque los informes de las agencias gubernamentales afirman que su consumo es seguro. Sin embargo, es el edulcorante que más quejas ha presentado ante la *FDA* de los Estados Unidos que ningún otro producto o medicamento (García-Almeida et al., 2013).

2.3.3 Sacarina

El primer edulcorante artificial utilizado fue la sacarina. Fue descubierta por Constantino Fahlberg, en 1879 y su uso comercial data desde 1901 como endulzante de bebidas principalmente a nivel industrial y como parte de la alimentación de diabéticos. En la actualidad está aprobada en más de 90 países (Serra-Majem et al., 2014). La sacarina sigue dominando el

mercado global de los edulcorantes de alta intensidad en cuanto a niveles de consumo. De hecho, actualmente, no se encuentra en el mercado una pasta dentífrica que no lo contenga.

Aunque en la década de 1970 se le vinculó con la aparición de cáncer de vejiga en roedores de laboratorio, posteriormente más de 30 estudios en humanos demostraron que el resultado encontrado en los animales no fue relevante (Vavasour, 1993). En el año 2000, el Programa Nacional de Toxicología de los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos, decidió retirarla de la lista de carcinógenos potenciales. De manera reciente, el estudio de Suez et al. (2014), de modificación de la microbiota intestinal sugirieron que dosis relativamente altas de sacarina podrían producir alteraciones en la tolerancia a la glucosa.

Este edulcorante es una sulfamida, cuyo átomo de hidrógeno la hace algo ácida y forma sales fácilmente. La sacarina es aproximadamente 300 veces más dulce que la sacarosa, tiene un índice glucémico cero, no aporta energía según sus fabricantes y presenta un gusto metálico en altas concentraciones. Un porcentaje significativo de la población percibe las soluciones de sacarina con un resabio metálico y amargo. Es por ello por lo que la sacarina no se utiliza frecuentemente de manera aislada en los productos comerciales, sino en combinación con otros edulcorantes de alta intensidad como el ciclamato, el aspartame, el alitame y la sucralosa, con los cuales presenta un efecto sinérgico del dulzor (Durán et al., 2013; García-Almeida et al., 2013).

2.3.4 Sucralosa

La sucralosa es un edulcorante no nutritivo derivado de la sacarosa (azúcar de mesa). Fue descubierto en 1976. Es un compuesto de 1,6 dicloro - 1,6 dideoxi- β -D- fructofurano-sil-4-cloro-4-deoxi- α D-galactopiranosido, obtenido por la halogenación selectiva de la molécula de sacarosa. Se aprobó para su consumo en Estados Unidos en 2004 (Goldsmith y Merkel, 2011).

Es 600 veces más dulce que la sacarosa y dado que teóricamente no es metabolizable no aporta energía. Además, la sucralosa tiene un sabor que no difiere considerablemente del azúcar común y no se descompone con el calor. Es ampliamente utilizada a nivel mundial, ya sea sola o con otros edulcorantes y se puede encontrar en miles de alimentos y bebidas. Según sus fabricantes,

es pobremente absorbida a través del tracto gastrointestinal. Estudios recientes han documentado que la sucralosa puede alterar la microbiota y el aumento de masa corporal cuando se suministra en las ratas (Durán et al., 2013, Schiffman y Rother, 2013; Suez et al., 2014).

2.4. Edulcorantes nutritivos

2.4.1. Sacarosa

La sacarosa es el endulzante por excelencia de los alimentos y en nuestro paladar la reconocemos como “dulce”. Está constituida por una molécula de fructosa y otra de glucosa unidas por un enlace glucosídico. Aporta 4 kilocalorías por gramo. Se extrae industrialmente a partir de la caña de azúcar y de la remolacha. Se utiliza, además de endulzar los alimentos, para mejorar el sabor ácido y/o amargo de muchos de ellos y para conservarlos mediante un aumento de la presión osmótica, lo que impide el crecimiento de muchos microorganismos (Gómez y Palma, 2013).

Se hidroliza en el intestino por la acción del complejo enzimático sacarasa-isomaltasa. De los productos de hidrólisis, la D-glucosa es absorbida rápidamente, mientras que la D-Fructosa libre es absorbida lentamente. Parte de esa fructosa es convertida en D-glucosa en el propio intestino o se metaboliza directamente en el hígado por la vía de la circulación portal formando triglicéridos (Plaza-Díaz et al., 2013). La sacarosa, cuando es incluida de forma equilibrada como parte de una dieta balanceada, tiene importantes propiedades, ya que favorece el aporte rápido de glucosa al cerebro y al músculo, siendo un glúcido imprescindible para el desarrollo de las funciones cognitivas y de la actividad física (Zamora y Pérez, 2013).

Las recomendaciones por parte de la OMS/FAO (2003) son de un consumo de hidratos de carbono simples (glúcidos) inferior a un 10% del valor energético de la dieta.

2.4.2. Glucosa

La D-glucosa es un glúcido reductor que se encuentra libre en la sangre de todos los mamíferos. Todas las frutas y hortalizas contienen en menor o mayor cantidad a este monoglúcido, pero la

fruta que contienen una mayor cantidad de glucosa es el dátil. Otro producto rico en glucosa es la miel, llegando a contener en promedio un 40%. No obstante, la mayor parte de la glucosa que se utiliza en la industria de los alimentos proviene de la hidrólisis enzimática del almidón de diversos cereales como el maíz o el trigo. La glucosa tiene un poder edulcorante de 0.7 con respecto de la sacarosa (con un valor unitario). Se absorbe por todas las células mediante transportadores específicos. Es abundante como polímero de reserva en los animales (glucógeno) y en las plantas (almidón). La mayor parte de la glucosa está presente como polímero no digestible (celulosa). La glucosa se puede producir a partir de la hidrólisis del almidón por vía enzimática. Asimismo, parte de la glucosa puede isomerizarse a fructosa mediante el empleo de glucosa isomerasa. Tanto la glucosa como las mezclas de glucosa y fructosa en forma de jarabes pueden añadirse a varios alimentos, especialmente a productos de confitería y bollería, así como a bebidas refrescantes y otros productos, como edulcorantes (Plaza-Díaz et al., 2013) y se sospecha que muchos problemas metabólicos se derivan de su uso exagerado en la industria alimentaria y de bebidas no alcohólicas, especialmente por la presencia de la fructosa como se verá abajo.

2.4.3. Fructosa

Después de la segunda guerra mundial y con la escasez alimentaria, el gobierno de Estados Unidos promovió y dio grandes apoyos a quienes cultivaran maíz a gran escala, dado que se veía este cereal como un cultivo de gran extensión y fácil manejo. En 1970 el resultado fue drástico en el aumento de la producción y por lo tanto una disminución en el precio de maíz cuando se saturó el mercado. Entre 1970-2007, la producción aumentó casi 40%. Al mismo tiempo, en 1960 se desarrollaron una gran variedad de subproductos de maíz, incluido el edulcorante de bajo costo conocido como jarabe de maíz, con un alto contenido de fructosa y cuya versión moderna tiene una mezcla de fructosa-glucosa (Sánchez, 2013).

El consumo de alimentos con alta densidad energética aumentó durante los últimos 30 años al igual que la ingesta de carne. A partir de 1980, esta tendencia se extendió a México, que se convirtió en un asiduo mercado para los productos de maíz procesado, para los refrescos y para la llamada comida rápida (Sánchez, 2013).

Es el glúcido con mayor poder edulcorante, 1.4 veces el de la sacarosa. Se absorbe de forma pasiva, más lentamente que la glucosa. Existen polímeros de la fructosa, tanto naturales (inulina) como obtenidos por síntesis (fructo-oligosacáridos), pero estos compuestos no contribuyen al dulzor de los alimentos de manera significativa y son pobremente digeridos, por lo que tienen un comportamiento de fibra soluble. Las fuentes alimentarias de fructosa son las frutas, la miel, la sacarosa y el jarabe de maíz con grandes cantidades de fructosa (también llamado simplemente jarabe de alta fructosa), un edulcorante de bajo costo utilizado en una gran variedad de alimentos y de bebidas procesados (Plaza-Díaz et al., 2013), justamente por los subsidios estadounidenses al maíz.

El metabolismo de la fructosa ocurre predominantemente en el hígado. En el hígado existen dos vías para el metabolismo de la fructosa, una de ellas es a través de la fructosa-1-fosfato (la principal) y la otra a través de la fructosa-6-fosfato. La vía de la fructosa-1-fosfato se salta los puntos de control de la glucólisis y conlleva a que casi toda la fructosa sea metabolizada hasta la síntesis de ácidos grasos promoviendo una lipogénesis *de novo* (Bray et al., 2004; Hui et al., 2014; Keim y Havel, 2013).

2.5. Efecto saciador de edulcorantes no nutritivos y nutritivos

Los glúcidos, además del sabor dulce, añaden una amplia variedad de cualidades favorables a los alimentos, como su acción antimicrobiana, el gusto, aroma y textura, así como la viscosidad y consistencia, las cuales se comportan como generadoras de saciedad. Aunque la saciedad conseguida es mayor con las proteínas, la de los glúcidos e hidratos de carbono es superior a la de las grasas y son a su vez la mayor fuente energética de la dieta. Estudios sobre la termogénesis inducida por los alimentos han mostrado que la energía disipada en forma de calor es menor tras la digestión de grasas ($\approx 7\%$), que tras la digestión de hidratos de carbono ($\approx 12\%$) y proteínas ($\approx 22\%$) (Gómez y Palma, 2013).

Se han planteado al menos dos hipótesis que podrían explicar esta paradoja entre el consumo de edulcorantes no nutritivos y los resultados metabólicos adversos. La primera es la teoría de la causalidad inversa, que consiste en que los individuos con mayor riesgo de ganar masa eligen

consumir edulcorantes no nutritivos como estrategia para reducir el consumo de glúcidos y energía, y la segunda, consiste en que los edulcorantes no nutritivos no son fisiológicamente inertes y afectan los procesos biológicos que intervienen en la regulación de la energía y la homeostasis de la glucosa (Manzur-Jattin et al., 2020).

Como es comentado por Jing et al. (2009), Wang et al. (2016) y Gómez-Vázquez (2017), los edulcorantes no nutritivos no poseen un poder saciador como la sacarosa, inclusive podrían causar la sensación de hambre estimulando comer en exceso, además de estimular los receptores del gusto, creando adicción al sabor dulce. Swithers et al. (2010) comentan que en algunos estudios en humanos a corto plazo se ha demostrado una reducción en la ingesta energética resultante de una compensación sólo parcial de la energía no ingerida frente a sacarosa principalmente en bebidas refrescantes.

Al parecer, la disociación de la sensación del sabor dulce y el aporte energético deficiente producido por los edulcorantes podría condicionar un incremento en el apetito, dando lugar a un mayor consumo energético y ganancia de masa corporal (Davidson et al., 2011). Esta hipótesis de condicionamiento operativo (Modelo de Pavlov) ha podido demostrarse en modelos animales. Por ello, una ingesta elevada de hidratos de carbono superior a las necesidades del organismo dará lugar a un ritmo elevado en la oxidación de los carbohidratos con elevada producción de ATP, con un ritmo elevado en la lipogénesis *de novo*, y una mayor acumulación de grasa en tejido adiposo. Un exceso de lipogénesis *de novo* en hígado elevará los niveles de triglicéridos séricos e incrementará los lípidos intrahepáticos, lo cual conducirá al hígado graso no alcohólico, además de relacionarse con una resistencia a la insulina (Softic et al., 2017).

La OMS/FAO (2003) indica que las dietas limitadas en glúcidos libres reducen la ingesta total de energía y tienden a reducir la masa corporal, por lo que las bebidas ricas en glúcidos libres elevan la ingesta total de energía al reducir el control del apetito. Raben et al. (2002) demostraron que cuando se consumen refrescos ricos en glúcidos libres, hay una mayor ingesta energética y un aumento progresivo de la masa corporal en comparación con las bebidas sin calorías que llevan edulcorantes artificiales. Poppitt et al. (2002) revelaron que la sustitución de los carbohidratos

simples por carbohidratos complejos tiene efectos claramente beneficiosos en el cambio de masa y en los índices metabólicos en las personas con síndrome metabólico.

2.6. Lipogénesis *de novo*

No toda la glucosa producida se procesa inmediatamente por las células para obtener energía. Para generar reservas energéticas que les permitan seguir funcionando en los periodos de ayuno, los organismos tienen mecanismos adicionales que les permiten convertir el exceso de glucosa en glucógeno (glucogenogénesis), que puede ser “almacenado” en el hígado o en los tejidos musculares para su utilización posterior al reconvertirlo nuevamente en glucosa (glucogenólisis). De la energía provista por cada alimento (desayuno, comida, cena o colación), el hígado sólo puede almacenar en forma de glucógeno hasta 75 g de glucosa (300 kcal), el exceso de este valor en cada alimento tiene que ser almacenado de otra manera. Para ello, el hígado metaboliza este excedente energético convirtiéndolo en ácidos grasos libres que constituyen la base del metabolismo de los lípidos y su conversión final en grasa (lipogénesis) (Moreno-Martínez et al., 2011).

La lipogénesis es muy sensible a los cambios en la dieta. Los ácidos grasos poliinsaturados disminuyen la lipogénesis suprimiendo la expresión génica en el hígado, incluyendo la de la ácido graso sintasa (*FAS*). La glucosa del exceso de carbohidratos en la dieta estimula la lipogénesis tanto en el hígado como en el tejido adiposo y finalmente es convertida en ácidos grasos, que están esterificados a triacilglicerol (TAG) y secretadas como lipoproteínas de muy baja densidad (*VLDL*), lo que conduce a niveles elevados de triglicéridos plasmáticos postprandiales. El ayuno reduce la lipogénesis debido al aumento de glucagón y niveles elevados de *AMPc*, que, combinado con un aumento de la tasa de lipólisis, conduce a la pérdida neta de triglicéridos de las células de grasa. Por el contrario, en el hígado, debido a las grandes cantidades de ácidos grasos que llegan del tejido adiposo, la síntesis de triglicéridos aumenta, lo que resulta en una forma leve de hepatoesteatosis (hígado graso) que se asocia con obesidad y una resistencia a la insulina (Fig. 2.3) (López-Oliva y Muñoz-Martínez, 2014).

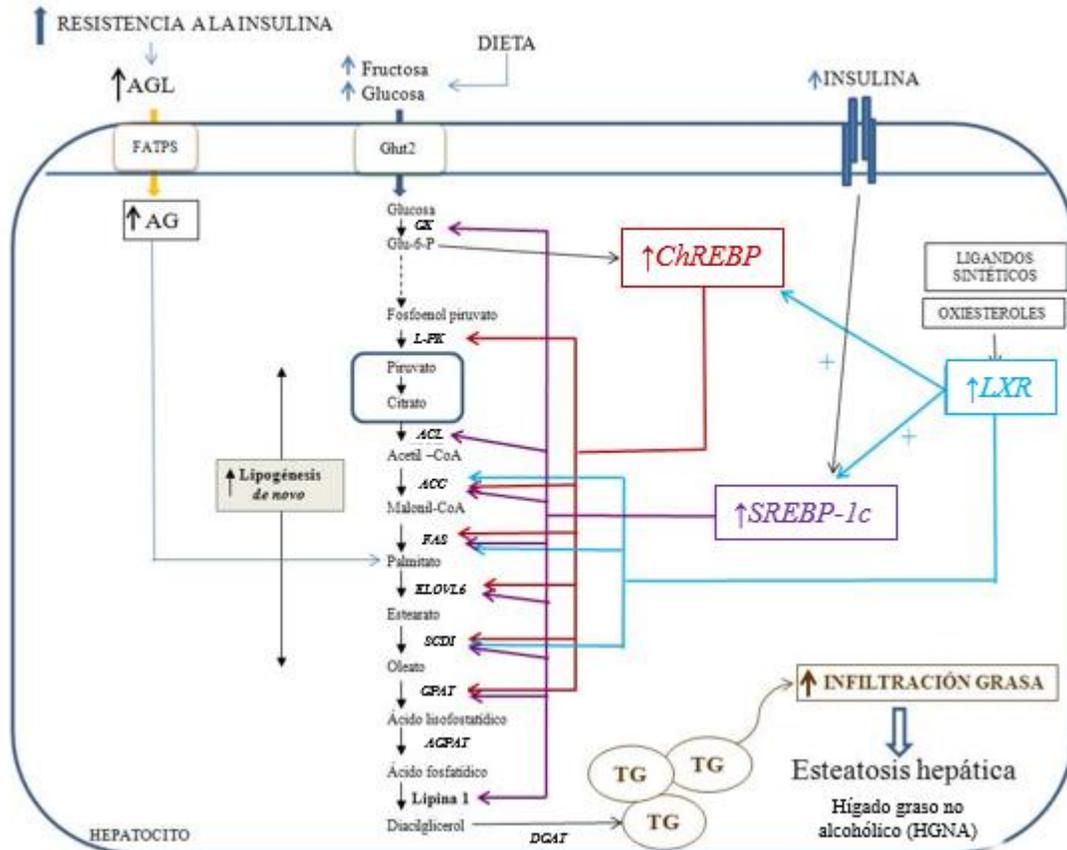


Figura 2.3. Interacción funcional entre los factores de transcripción SREBP-1c, ChREBP y LXR en la inducción de la esteatosis hepática (modificada de López-Oliva y Muñoz-Martínez, 2014)

Los niveles plasmáticos de glucosa estimulan la lipogénesis a través de varios mecanismos. En primer lugar, la glucosa en sí es un sustrato para la lipogénesis. La glucosa promueve la síntesis de ácidos grasos al ser glucolíticamente convertido en piruvato y posteriormente ser transformado este piruvato por la piruvato deshidrogenasa en acetil-CoA. En segundo lugar, la glucosa induce la expresión de genes lipogénicos, mediante factores de transcripción como la proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (*ChREBP*) y la proteína de unión al elemento de respuesta del esterol (*SREBP*). Finalmente, la glucosa aumenta la lipogénesis estimulando la liberación de insulina e inhibiendo la liberación de glucagón del páncreas (Kersten, 2001; Wang et al., 2015).

La acumulación de grasa está determinada por el equilibrio entre la síntesis de grasa (lipogénesis) y la descomposición de la grasa (lipólisis/oxidación de ácidos grasos). La lipogénesis abarca los

procesos de síntesis de ácidos grasos y la síntesis posterior de triglicéridos, y tiene lugar tanto en el hígado como en el tejido adiposo (Fig. 2.4) (Kersten, 2001).

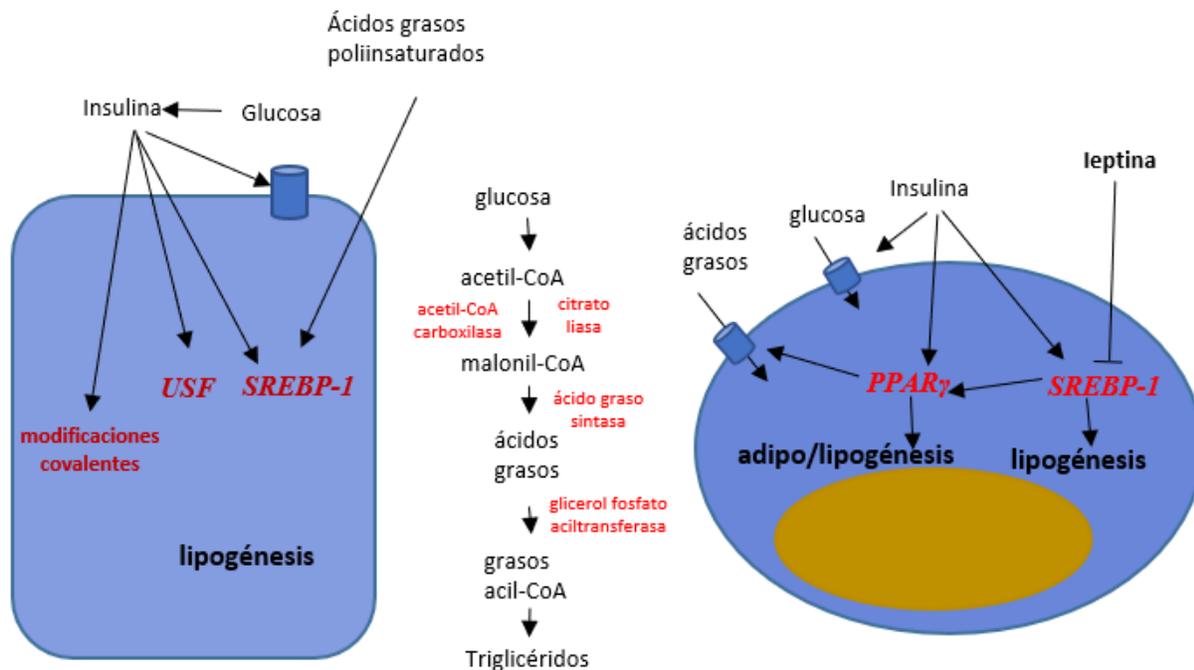


Figura 2.4. Regulación de la lipogénesis en hepatocitos y adipocitos (modificada de Kersten, 2001)

La deposición de grasa en el tejido lipídico es un aspecto importante del metabolismo energético que se origina a partir de ácidos grasos ingeridos o de una síntesis *de novo*. La síntesis de ácidos grasos es activa en varios tejidos (hígado, glándula mamaria, pulmón, intestino, y tejido adiposo marrón y blanco). La lipogénesis *de novo* (DNL, por sus siglas en inglés) es un proceso mediante el cual los lípidos se sintetizan de manera endógena a partir de fuentes dietéticas, generalmente carbohidratos o depósitos de energía almacenada. El proceso se puede dividir en tres pasos secuenciales: Síntesis de ácidos grasos, elongación/desaturación de ácidos grasos y ensamblaje en triglicéridos (Nelson y Cox, 2009).

Los carbohidratos de la dieta, que se consumen principalmente como almidones (polímeros de glucosa) o azúcar de mesa (sacarosa), se descomponen en monosacáridos de seis carbonos, glucosa o fructosa, cuyo metabolismo converge en la producción de dos intermediarios, gliceraldehído-3 fosfato (GA3P) y la dihidroxiacetona fosfato (DHAP). Estos intermediarios

pueden ser convertidos internamente o metabolizados adicionalmente a piruvato, el cual es el producto final del metabolismo de la glucólisis (Softic et al., 2016).

El piruvato puede entrar en las mitocondrias, donde se convierte en acetil-CoA, para usarse en el ciclo de Krebs o del ácido tricarboxílico (*TCA*, por sus siglas en inglés), para la producción de energía. Cuando las reservas de energía son abundantes, los intermediarios de *TCA* se acumulan y el citrato se transporta de nuevo al citoplasma mediante el sistema de transporte denominado lanzadera de citrato.

El citrato es convertido en acetil-CoA, por la acción de la adenosina trifosfato citrato liasa (*ACL*, por sus siglas en inglés), que es el primer paso de la síntesis de ácidos grasos endógenos. Además, el citrato es un activador alostérico de la acetil-CoA carboxilasa (*ACC*, por sus siglas en inglés), cuya acción es convertir la acetil-CoA en malonil-CoA. La malonil-CoA es la principal fuente de carbono utilizada para la síntesis endógena de ácidos grasos (Fullerton et al., 2013).

2.7. Ácido graso sintasa (*FAS*)

La ácido graso sintasa (*FAS*, por sus siglas en inglés) es una proteína multifuncional que cataliza la síntesis de los ácidos grasos de cadena larga a partir de la acetil-CoA y el malonil-CoA. Su actividad está correlacionada con la tasa de síntesis de los ácidos grasos. Esta proteína es activa como un dímero. El fosfato de dinucleótido de adenina nicotinamida reducido (*NADPH*, por sus siglas en inglés) es el portador de electrones necesario para reducir los dobles enlaces y grupos carbonilo de varios intermediarios producidos durante la síntesis de ácidos grasos por el complejo *FAS*.

Se desconocen los efectores alostéricos de *FAS*, pero la concentración de la enzima es altamente sensible a la regulación nutricional y hormonal. En condiciones de abundancia de nutrientes, la lipogénesis *de novo* puede promover el almacenamiento del exceso de energía en forma de triglicéridos hepáticos (Jensen-Urstad y Semenkovich, 2012). La insulina promueve la expresión de *FAS* mediante la activación de factores de transcripción como la proteína de unión al elemento regulador del esterol (*SREBP-1c*) y los factores estimuladores ascendentes 1 y 2 (*USF1* y *USF2*)

(Jensen-Urstad y Semenkovich, 2012). La enzima ácido graso sintasa (*FAS*) cataliza la biosíntesis de ácidos grasos a partir de la condensación de acetil-CoA y malonil-CoA, la cadena de ácido graso en crecimiento crece en dos carbonos, seguido de dos pasos de reducción, los cuales requieren de *NADPH* como donante de electrones. Finalmente, 7 ciclos de condensación y reducción producen un grupo saturado palmitato, un ácido graso saturado de 16 carbonos, el principal producto de la síntesis de ácidos grasos (Fig. 2.5) (Bazin y Ferré, 2001).

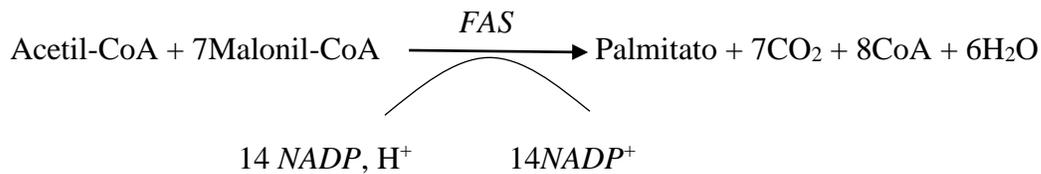


Figura 2.5. Catálisis de la biosíntesis de ácidos grasos *FAS* para la producción de palmitato (Bazin y Ferré, 2001).

El aumento de las concentraciones citoplásmicas de palmitato inhibe de manera alostérica la actividad de la acetil-CoA carboxilasa (*ACC*) y reduce las tasas de lipogénesis *de novo* (*DNL*, en inglés), proporcionando retroalimentación negativa adicional sobre el proceso.

Adicionalmente, la sintasa de ácidos grasos (*FAS*) es regulada a nivel transcripcional. La insulina promueve la expresión de *FAS* mediante la activación de factores de transcripción como la proteína de unión al elemento regulador del esteroil (*SREBP-1c*) (Jensen-Urstad y Semenkovich, 2012). A concentraciones bajas de glucosa, el factor de transcripción *ChREBP* (en inglés proteína de unión al elemento de respuesta de los carbohidratos) se encuentra fosforilado e inactivo, mientras que, a concentraciones altas de glucosa, *ChREBP* sufre desfosforilación) se transloca al núcleo para activar a sus genes diana; entre los genes diana de *ChREBP* se encuentra el gen codificante para la sintasa de ácidos grasos (*FAS*) (López-Oliva y Muñoz-Martínez, 2014).

2.8. Hígado graso no alcohólico

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (*NAFLD*, por sus siglas en inglés) se define como una acumulación excesiva de lípidos hepáticos que exceden del 5 al 10% de la masa de

este órgano. El síndrome metabólico es un importante predictor del *NAFLD*. Se ha estimado que en hombres con síndrome metabólico el riesgo de tener hígado graso no alcohólico es cuatro veces mayor (y en las mujeres once veces mayor) que en aquellos sin síndrome metabólico (Castro-Martínez et al., 2012).

En México, la prevalencia de *NAFLD* no se encuentra bien determinada, sin embargo, existen estudios en EE. UU. que reportan entre 10 y 24% de la población general, porcentaje que aumenta hasta 58 a 74% en personas obesas. La prevalencia en niños es de 2.6% aumentando hasta 22 a 53% en niños obesos (Castro-Martínez et al., 2012; Roesch-Dietlen et al., 2006).

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA

3.1. Desarrollo experimental

A continuación, en la **Figura 3.1** se aprecia el diagrama de bloques general de la investigación

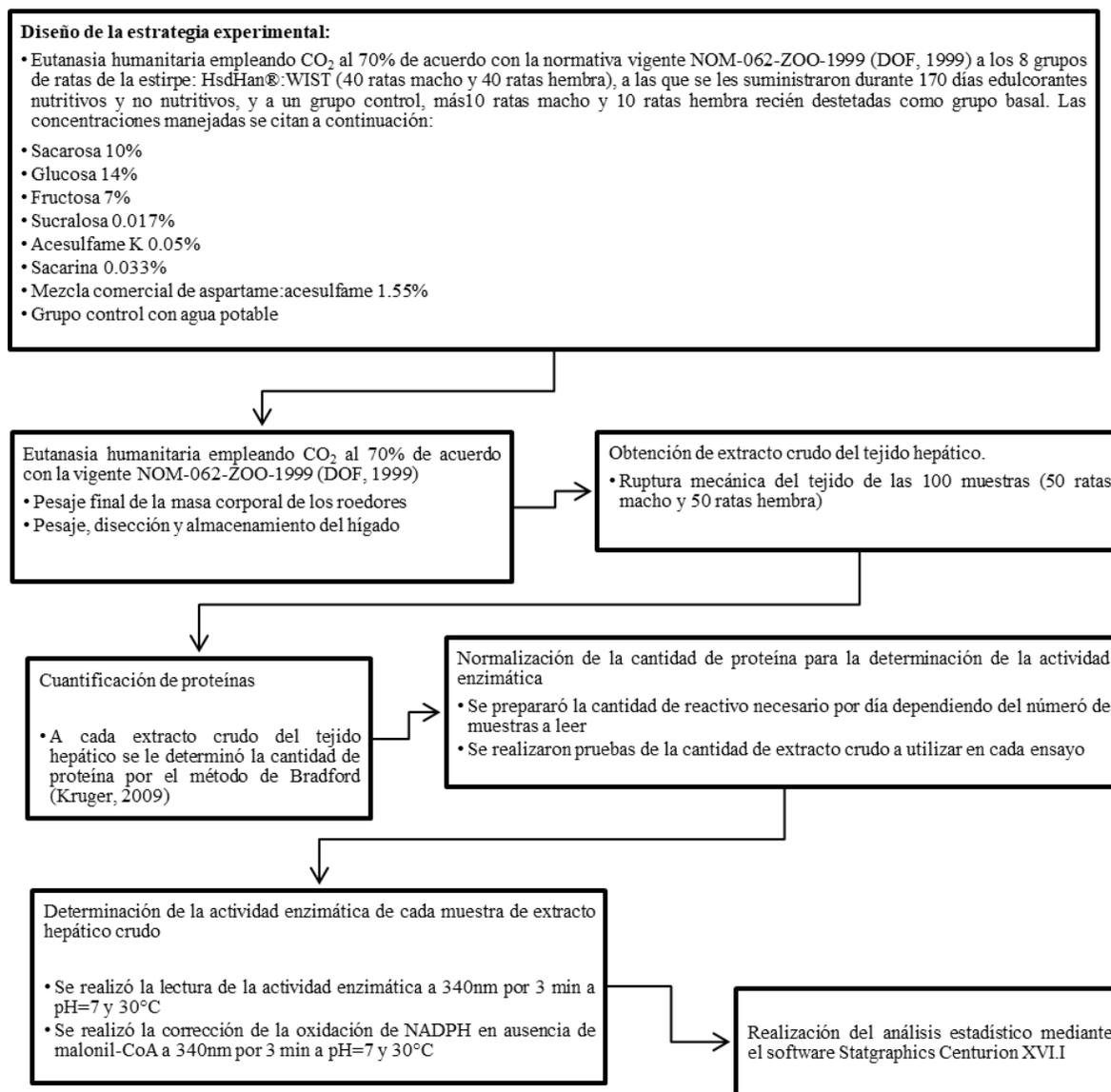


Figura 3.1. Esquema de bloques de la estrategia experimental

3.2. Estrategia experimental

El proyecto, aprobado por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Química de la UNAM, fue un experimento multifactorial categórico. Como primer factor se tuvo el sexo de los especímenes y como segundo factor se tuvo el edulcorante consumido. Las variables de respuesta fueron la actividad enzimática expresada como mU/mg, masa de los especímenes y la relación de la masa de hígado/masa corporal. Las muestras de tejido hepático provinieron de ratas macho (n=40) y hembra (n=40) de la estirpe HSD:Han Wistar, recién destetadas de masa corporal entre 40-60 g adquiridas a la empresa ENVIGO (2018).

Todos los roedores fueron alimentados con una dieta normal Teklad Global 18s[®] y se les suministraron edulcorantes nutritivos y no nutritivos durante 170 días con el agua potable. Cada grupo contó con n=5. Las concentraciones de las bebidas endulzadas suministradas a cada grupo fueron las siguientes: Sacarosa 10% (m/v), fructosa 7% (m/v), glucosa 14% (m/v), acesulfame de K al 0.05% (m/v), mezcla de acesulfame-aspartame 1.55% (m/v), sucralosa 0.017% (m/v) y sacarina al 0.033% (m/v).

Las concentraciones propuestas fueron las que comúnmente se encuentran en bebidas comerciales y tomando como referencia las ingestas diarias admisibles (ADI) (Mendoza-Pérez, 2017). Cabe mencionar que a la llegada de las ratas recién destetadas se realizó la eutanasia humanitaria de machos (n=10) y hembras (n=10) y se obtuvieron los 20 hígados para el denominado grupo basal (tiempo de experimentación=0 días).

3.3. Eutanasia

A 80 ejemplares que consumieron crónicamente edulcorantes nutritivos y no nutritivos durante 170 días, se les realizó una eutanasia humanitaria empleando una atmósfera rica en CO₂ (aproximadamente 70%) de acuerdo con la normativa vigente: NOM-062-ZOO-1999 (DOF, 1999). Posteriormente, una vez dormidos, cada ejemplar fue decapitado con una guillotina para roedores. Una vez decapitados, se procedió a la disección de los 40 hígados de las ratas macho y

40 hígados de las ratas hembra. Tras realizarse la extracción de los 80 hígados, se procedió a su pesaje y proceso de almacenamiento a -20°C , para su posterior análisis.

3.4. Extracción de proteínas

Para la extracción de proteínas de las muestras de hígado, se preparó una solución amortiguadora de lisis *RIPA*[®] la cual contiene *TBS* (solución 50 mM de Tris base, 150 mM de NaCl y debe encontrarse a un pH de 7.6), *NP-40* (nonil-fenol-polietilenglicol éter al 1%), desoxicolato de sodio 0.5%, *SDS* (dodecil sulfato de sodio en inglés) al 0.1% y azida de sodio 0.006%.

En tubos de microcentrífuga de 1.5 mL se añadieron 200 μL de solución amortiguadora de lisis: *RIPA* activada (50 mL de solución *RIPA* más 5 pastillas de inhibidores de proteasas, 500 μL de solución de NaF 100 mM y 1 mL de Na_3VO_4 100 mM). Una vez añadida la solución de lisis *RIPA* activada se colocó en cada microtubo entre 100-300 mg de hígado congelado.

El tejido sufrió una ruptura mecánica utilizando un homogeneizador de proteínas de la marca *PELLET PESTLE*[®] Motor. Se agregaron 800 μL adicionales de solución amortiguadora (*buffer*) de lisis activada a cada microtubo. Cada extracto crudo hepático fue inmediatamente, después de la ruptura mecánica del tejido, sometido a una agitación en un equipo *Vórtex Genie-2* a 3200 rpm, para, posteriormente, centrifugarse en una microcentrífuga Eppendorf (modelo 540), a 14,000 rpm durante 15 minutos a 4°C . El sobrenadante obtenido se trasvasó a tubos de microcentrífuga previamente etiquetados de 1.5 mL y se almacenaron a -20°C para su uso posterior.

3.5. Pruebas bioquímicas

3.5.1. Cuantificación de proteínas

Para la cuantificación de proteína en los extractos de tejidos hepáticos se empleó el método de Bradford y se construyó una curva estándar con globulina, como proteína de referencia, con las siguientes concentraciones 0.0088, 0.011, 0.0132, 0.0154, 0.0176 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (Figura 3.2),

obteniéndose una $r^2=0.9911$ (Kruger, 2009). Para la cuantificación de las muestras a cada tubo de microcentrífuga de 1.5 mL se le añadieron 100 μL de muestra y 1000 μL de reactivo de Bradford (elaborado con 100 mg de azul de Coomassie disuelto en 50 mL de etanol al 96% y 100 mL de ácido fosfórico al 85% ajustados a 1 L de agua), registrándose la absorbancia a 595 nm. Las concentraciones de proteína de cada extracto se obtuvieron por interpolación en la curva estándar de globulina.

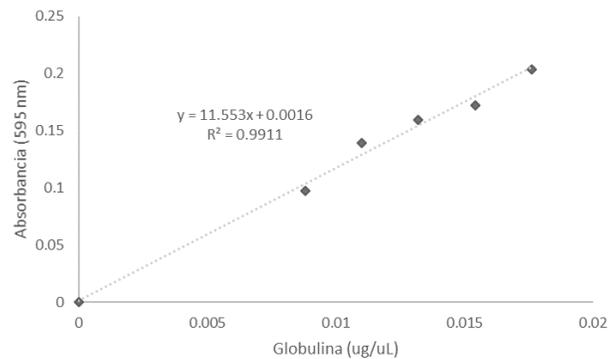


Figura 3.2. Curva patrón por método de Bradford

De esta curva se obtuvo la Ecuación 1:

$$Y = 11.553x + 0.0016$$

Ecuación 1

De la ecuación 1 se despeja x y se multiplica por su respectivo factor de dilución, obteniéndose la Ecuación 2:

$$\text{Concentración } (\mu\text{g/mL}) = \frac{(\text{Absorbancia}-0.0016) \times \text{Factor de dilución} \times 1000(\mu\text{g/mL})}{11.553} \quad \text{Ecuación 2}$$

3.5.2. Actividad enzimática de la ácido graso sintasa (FAS)

Para la determinación de la actividad enzimática se realizó una adaptación al método espectrofotométrico de Nepokroeff et al. (1975).

Para ello se utilizó la balanza analítica marca Mettler Toledo® modelo AT21 Comparator 0.001 µg - 22 g, una micropipeta marca BRAND® Transferpette® digital 100 – 1000 µL; micropipeta Rainin Classic® PR - 200 20 - 200 µL.

Se colocaron 480 µL de la mezcla de reacción recién preparada (154.8 µL de solución amortiguadora de fosfatos a pH=7 (KH₂PO₄ 654.55 mM, Na₂HPO₄ 416.035 mM y EDTA 2.15 mM), 51.6 µL de acetyl-CoA 212.96 µM, 51.6 µL de malonil-CoA 645.35 µM, 51.6 µL de NADPH 645.35 µM, 23.4 µL de β-mercaptoetanol y 147 µL de agua desionizada. La mezcla de reacción se incubó a 30°C por 5 minutos. Posteriormente, se registró la absorbancia de la mezcla de reacción a 340 nm en un espectrofotómetro de UV/Vis Rayleigh UV-1800 para determinar la lectura basal. Para la determinación de los niveles de actividad de cada muestra se añadieron 20 µL del extracto hepático. Inmediatamente se agitó suavemente y se registró la oxidación de NADPH a 340 nm durante 3 minutos a un pH=7 y a una temperatura de 30°C. A cada una de las muestras se le realizó también una lectura sin malonil-CoA para corregir la oxidación intrínseca del NADPH.

Con los registros de absorbancias vs. el tiempo se construyeron dos curvas de avance de reacción por cada muestra, una en presencia de malonil-CoA y otra en ausencia de malonil-CoA.

De las ecuaciones obtenidas de las curvas de avance de reacción, se tomó la diferencia de las primeras pendientes (velocidad inicial). Se debe tomar en cuenta el factor de dilución y el volumen total de la reacción, así como el coeficiente de extinción molar del NADPH y el volumen de muestra utilizado, obteniéndose la Ecuación 3:

$$\frac{U}{mL} = \frac{|\Delta Abs \text{ muestra}| - |\Delta Abs \text{ corrección}| \text{ Factor de dilución} * \text{Volumen final}}{\text{Coeficiente de extinción molar} * \text{Volumen muestra}} \quad \text{Ecuación 3}$$

Para determinar la actividad específica se dividen los niveles de actividad de cada extracto entre la concentración de proteínas de este, obteniéndose la Ecuación 4:

$$\frac{U}{mg} = \frac{U/mL}{mg/mL} \quad \text{Ecuación 4}$$

donde U se define como la cantidad de ácido graso sintasa (*FAS*) que cataliza 1 μmol de NADPH por minuto a 30°C y a un pH de 7.

3.6. Análisis estadístico

Los datos experimentales obtenidos se exportaban en una hoja de datos *Excel* para su posterior tratamiento estadístico mediante los programas especializados *Statgraphics Centurion XVI.I* y *Minitab 17*.

Los análisis de varianza (ANDEVA) de una y dos vías, según sea el caso, se realizaron con ayuda del *software Statgraphics Centurion XVI.I*.

Sin embargo, para poder realizar el análisis de varianza se deben cumplir los siguientes requisitos:

- Los datos deben seguir distribuciones normales dentro de cada uno de los grupos
- Debe existir igualdad de varianza (homocedasticidad)
- Las muestras deben ser independientes (Walpole et al., 2012)

Los tratamientos estadísticos que se llevaron a cabo en cada grupo de datos fueron:

1. Identificación de datos atípicos o aberrantes mediante la prueba de Grubbs, empleando el *software Statgraphics Centurion XVI.I* (Statpoint Technologies, 2009a)
2. Comprobación de la normalidad a través de la prueba Shapiro-Wilk con ayuda del *software Statgraphics Centurion XVI.I* (Statpoint Technologies, 2009c)
3. Verificación de la homocedasticidad a través de la prueba Levene utilizando el *software Statgraphics Centurion XVI.I* (Statpoint Technologies, 2009b)
4. Análisis de varianza (ANDEVA) con ayuda del *software Statgraphics Centurion XVI.I* (Statpoint Technologies, 2009d)
5. Prueba de rangos múltiples *post hoc* de Duncan utilizando el *software Statgraphics Centurion XVI.I* (Statpoint Technologies, 2009e)

6. Para aquellos grupos de datos que no cumplieron con los criterios establecidos para realizar un análisis de varianza se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis, la cual proporciona información sobre la posible igualdad de medianas entre grupos y permite rechazar esta hipótesis de igualdad cuando el valor de P sea menor de 0.05. Esta prueba se realizó con la ayuda del software Statgraphics Centurion XVI.I (Statpoint Technologies, 2009f)

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis de la masa corporal a los 170 días de la ingesta de edulcorantes

La Tabla 4.1 muestra el análisis de varianza de dos vías para la masa corporal. En ella se aprecia que el valor P fue menor que el de $\alpha=0.05$ y por ello se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el factor sexo del espécimen sobre la masa corporal a los 170 días. Por el contrario, para el factor edulcorante el valor-P fue mayor que $\alpha=0.05$ y, por lo tanto, no hubieron diferencias significativas en la masa corporal atribuibles al tipo de edulcorante ingerido.

Tabla 4.1. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa corporal a los 170 días de la ingesta de edulcorantes

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Edulcorante	8809.9	7	1258.6	1.48	0.1896
B:Sexo	1.043E6	1	1.043E6	1228.3	0.0000
INTERACCIONES					
AB	7763.9	7	1109.1	1.31	0.2619
RESIDUOS	54343.4	64	849.1		
TOTAL (CORREGIDO)	1.114E6	79			

En la Tabla 4.2, se muestra el resultado del procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias fueron significativamente diferentes unas de otras, con un nivel del 95.0% de confianza. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias fue la comparación múltiple de Duncan. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0. El resultado de este método indica que las ratas hembra tuvieron una significancia menor de masa corporal (246.205 ± 20.957 g) en comparación con las ratas macho (474.567 ± 37.137 g). Estos datos concuerdan con lo reportado por el proveedor Envigo (Envigo, 2018).

Tabla 4.2. Pruebas de rangos múltiples para la masa corporal por sexo

<i>Sexo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Sigma</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Hembra	40	246.2	4.6	A
Macho	40	474.6	4.6	B

El ANDEVA de la Tabla 4.1 arrojó que no hubieron diferencias significativas intergrupales en la masa corporal. Es posible observar en la Tabla 4.3, que el grupo con mayor ganancia de masa fue el grupo que bebió fructosa (380.7 ± 144.36 g). En contraste el grupo con menor ganancia de masa fue el grupo de edulcorante de acesulfame de potasio (345.7 ± 118.93 g). La anterior tendencia confirma el hecho de que la fructosa es metabolizada por la vía de la lipogénesis y esto aumenta la cantidad de tejido adiposo y, por consecuencia, se incrementa la masa corporal (Martínez et al., 2010; Tappy et al., 2014).

Tabla 4.3. Tabla de medias de mínimos cuadrados para la masa corporal con intervalos de confianza del 95.0%

<i>Grupo de edulcorante</i>	<i>Casos</i>	<i>Masa corporal (g)</i>	<i>Límite inferior</i>	<i>Límite superior</i>
Acesulfame	10	345.7 ± 118.93	327.3	364.1
Sucralosa	10	350.4 ± 123.67	332.0	368.8
Control	10	356.9 ± 117.79	338.5	375.3
Aspartame:Acesulfame	10	357.6 ± 125.40	339.2	376.1
Glucosa	10	359.0 ± 112.36	340.6	377.4
Sacarosa	10	360.7 ± 123.67	342.4	379.2
Sacarina	10	371.8 ± 133.03	353.4	390.2
Fructosa	10	380.7 ± 144.36	362.3	399.18

En contraste, el grupo que ingirió glucosa fue el edulcorante calórico que menor incremento en masa corporal obtuvo, dado que es el sustrato más utilizado para la obtención de energía, que se almacena en el hígado y músculo en forma de glucógeno. El excedente de glucosa que no se utiliza como fuente inmediata de energía o para la síntesis de glucógeno puede transformarse a través de lipogénesis *de novo* en grasa que se almacena en los adipocitos. Sin embargo, esta conversión es energéticamente costosa. Raben et al. (2002) calcularon que es necesario un 68% más de energía (155 en comparación con 42 MJ/kg) para aumentar la grasa corporal en 1 kg a partir de carbohidratos que partiendo de grasas, por lo que afirmaron que “es difícil aumentar

masa grasa en sujetos de masa normal, particularmente a través de la sobreingesta de glucosa”. Lo anterior podría explicar el por qué a pesar de ingerir más energía a través de la bebida el grupo de glucosa, en esta etapa de la vida de los roedores, presentó la menor ganancia de masa corporal. No obstante, en futuras investigaciones sería adecuado realizar un análisis de composición corporal, debido a que pudiera darse el caso de que la masa total del espécimen no se incrementara, pero en caso de que así lo hiciera su composición grasa (tejido adiposo) disminuiría su proporción magra (músculo).

Con la finalidad de conocer la existencia de diferencias significativas entre los grupos del mismo sexo se realizó el análisis de varianza (ANDEVA) de una vía. Los resultados se muestran en las Tablas 4.4 y 4.5, para las ratas macho y hembra, respectivamente. Para ambos sexos el valor-P de la razón-F fue mayor que $\alpha=0.05$; por lo tanto, no hubieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos que ingirieron diversos edulcorantes en ninguno de los dos sexos.

Tabla 4.4. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa corporal de las ratas macho tras 170 días de ingesta de edulcorantes

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	15442.9	7	2206.1	1.84	0.1133
Intra grupos	38345.0	32	1198.3		
Total (Corr.)	53787.9	39			

Tabla 4.5. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa corporal de las ratas hembra tras 170 días de ingesta de edulcorantes

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1130.97	7	161.568	0.32	0.9378
Intra grupos	15998.4	32	499.949		
Total (Corr.)	17129.3	39			

Los análisis de varianza anteriores indicaron que el consumo de edulcorantes tanto nutritivos como no nutritivos no tuvieron un impacto significativo en la ganancia de masa corporal hasta esta etapa de la vida (jóvenes adultos). Lo anterior solamente aplica siempre y cuando los edulcorantes sean ingeridos junto con una dieta balanceada y en las primeras etapas de la vida de los roedores (jóvenes adultos). De acuerdo con Mendoza-Pérez (2021) los roedores a los 170 días

se encuentran en su etapa de jóvenes adultos. Lo anterior debe ser tomado en consideración ya que la mayoría de las enfermedades crónico-degenerativas aparecen en etapas avanzadas de la vida.

4.2. Análisis de la masa de hígados a los 170 días de la ingesta de edulcorantes

En relación con la masa del hígado, los análisis de varianza (Tabla 4.6) indican que los factores sexo y edulcorante tuvieron un efecto estadísticamente significativo sobre la masa del hígado ya que los valores de P fueron menores que $\alpha=0.05$.

Tabla 4.6. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa del hígado a los 170 días de la ingesta de edulcorantes

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Sexo	595.4	1	595.4	466.96	0.0000
B: Edulcorante	42.3	7	6.04	4.74	0.0003
INTERACCIONES					
AB	10.2	7	1.5	1.15	0.3461
RESIDUOS	80.3	63	1.3		
TOTAL (CORREGIDO)	732.3	78			

Debido a que hubieron diferencias significativas entre el sexo y el factor edulcorante, se realizó la prueba de rangos múltiples (Tabla 4.7), donde se aprecia que los grupos que bebieron fructosa y sacarosa fueron los grupos, sin distinción de sexo, que tuvieron las medias de masa de hígado significativamente mayores al grupo control. El grupo que bebió fructosa tuvo una masa de hígado promedio de 11.58 ± 3.22 g y el que bebió sacarosa de 10.99 ± 3.64 g. En contraste el grupo control tuvo una media de la masa de hígado de 9.69 ± 3.24 g. Este análisis indica que probablemente estos 2 edulcorantes promuevan el riesgo de obesidad y exista el riesgo de que se favorezca la esteatosis hepática (Olguín-B. et al., 2015). Lo anterior deberá ser confirmado en posteriores estudios histológicos que permitan la tinción de las vesículas de grasa presentes en el tejido hepático (Martínez et al., 2010).

Tabla 4.7. Pruebas de rangos múltiples para la masa de los hígados por edulcorante

<i>Grupo de edulcorante</i>	<i>Masa de hígado (g)</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Sucralosa	9.20 ± 2.41	A
Control	9.69 ± 3.24	A
Acesulfame	9.70 ± 3.00	A
Aspartame:Acesulfame	9.79 ± 2.90	A
Glucosa	9.98 ± 2.82	AB
Sacarina	10.35 ± 3.48	AB
Sacarosa	10.99 ± 3.64	BC
Fructosa	11.58 ± 3.22	C

En cuanto al factor sexo se encontró una diferencia significativa (Tabla 4.8) debido a que los machos fueron más grandes que las hembras y, por ende, la masa del hígado de los machos fue mayor (12.913 g) que la masa de los hígados de las hembras (7.414 g).

Tabla 4.8. Pruebas de rangos múltiples para la masa de hígado por sexo

<i>Sexo</i>	<i>Masa de hígado (g)</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Hembra	7.4 ± 0.178	A
Macho	12.9 ± 0.181	B

Al realizar el análisis de varianza de una vía para los datos de las ratas macho, el factor edulcorante fue significativo como se observa en la Tabla 4.9, ya que el valor-P fue menor a 0.05. En la Tabla 4.10, los grupos que presentaron una diferencia significativa con respecto del grupo control fueron los grupos que bebieron fructosa, sucralosa y acesulfame. Estos grupos presentaron una masa de hígado mayor al del grupo control. Este resultado era el esperado en fructosa pero no así para sucralosa y acesulfame. No obstante, se debe tener en consideración que en este análisis no se relacionó si el hígado fue proporcional al tamaño del espécimen, solamente se realizó una comparación entre la masa absoluta de los hígados de las ratas macho y no la relación masa de hígado/masa de manera individual.

Tabla 4.9. Análisis de varianza, ANDEVA, para la masa de los hígados de las ratas macho por grupo de edulcorante

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	41.41	7	5.91	3.45	0.0076
Intra grupos	53.21	31	1.72		
Total (Corr.)	94.61	38			

Tabla 4.10. Pruebas de rangos múltiples para las masas de hígados de las ratas macho por grupo de edulcorante

<i>Grupo de edulcorante</i>	<i>Masa de hígado (g)</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Glucosa	11.20 ± 1.455	A
Sacarosa	12.40 ± 1.345	AB
Control	12.46 ± 1.821	AB
Aspartame:Acesulfame	12.49 ± 0.234	AB
Sacarina	12.52 ± 1.111	AB
Fructosa	13.50 ± 1.054	BC
Sucralosa	14.19 ± 1.640	BC
Acesulfame	14.52 ± 0.990	C

Al contrario de los machos, como se aprecia en la Tabla 4.11, para el grupo de las hembras no hubo diferencias intergrupales estadísticamente significativa en la media de la masa del hígado, ya que el valor-P de la razón-F fue mayor a 0.05.

Tabla 4.11. Análisis de varianza, ANDEVA, para la masa de hígados de ratas hembra por grupo de edulcorante

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	11.12	7	1.58	1.87	0.1071
Intra grupos	27.12	32	0.847		
Total (Corr.)	38.24	39			

Si bien no se presentó una diferencia significativa entre grupos de edulcorantes, en la Tabla 4.12 se aprecia que los grupos que tuvieron la mayor masa de hígado fueron los grupos que bebieron sacarosa (7.78±1.19 g) y fructosa (8.64±0.83 g).

Lo anterior concuerda con el hecho de que el consumo excesivo de glúcidos simples conlleva a que se favorezca la lipogénesis *de novo* acumulándose los triglicéridos en el hígado y el tejido adiposo.

Por ello, se debe tomar en consideración ya que parte del excedente de los triglicéridos podría estar en el tejido adiposo y no necesariamente en el tejido hepático.

Tabla 4.12. Resumen estadístico para la masa de hígado de ratas hembra por grupo de edulcorante

<i>Grupo de edulcorante</i>	<i>Masa de hígado (g)</i>	<i>Coefficiente de variación (%)</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
Control	6.92 ± 1.03	14.85	5.87	8.16
Acesulfame	7.01 ± 0.588	8.39	6.31	7.83
Aspartame:Acesulfame	7.11 ± 0.708	9.96	6.21	7.79
Sacarina	7.20 ± 1.15	15.97	5.21	8.07
Sucralosa	7.21 ± 0.991	13.74	5.87	8.47
Glucosa	7.44 ± 0.676	9.09	6.50	8.16
Sacarosa	7.78 ± 1.19	15.34	6.11	9.15
Fructosa	8.64 ± 0.828	9.58	7.68	9.76

4.3. Análisis de la proporción entre las masas de los hígados con su masa corporal

Debido a que el patrón de la masa de hígado fue distinto entre grupo de edulcorantes se analizó la relación de la masa de hígado con respecto de la masa corporal de cada espécimen. La finalidad fue correlacionar el tamaño del espécimen con su hígado y así disminuir el sesgo que ocurre al comparar solamente los valores absolutos de la masa del hígado. Al realizar el análisis de varianza (Tabla 4.13), los dos valores de P fueron menores a $\alpha=0.05$ con un 95.0% de confianza lo cual indicó que, tanto el factor edulcorante como el factor sexo, tuvieron un efecto significativo sobre la relación masa hígado/masa corporal.

Tabla 4.13. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa de los hígados en proporción con su masa corporal a los 170 días de la ingesta de edulcorantes

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Sexo	0.000154	1	0.000154	30.98	0.0000
B: Edulcorante	0.000237	7	0.0000339	6.83	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.0000749	7	0.0000107	2.15	0.0510
RESIDUOS	0.000303	61	0.00000496		
TOTAL (CORREGIDO)	0.000743	76			

El análisis de varianza de la proporción de la masa de los hígados con respecto de la masa corporal indicó que las ratas hembra presentaron una proporción mayor entre la masa del hígado y su masa corporal que las ratas macho (Tabla 4.14). De acuerdo con Bernal-Reyes (2012), el sexo femenino es más propenso a la esteatosis hepática (hígado graso no alcohólico).

Tabla 4.14. Pruebas de rangos múltiples para la masa de hígado en proporción con su masa corporal por sexo

<i>Sexo</i>	<i>Hígado/Masa corporal (%)</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Macho	2.72 ± 0.0357	A
Hembra	3.01 ± 0.0363	B

La proporción de la masa de los hígados con la masa corporal de las ratas entre los grupos de edulcorantes (Tabla 4.15) indica que los edulcorantes nutritivos sacarosa y fructosa fueron los que presentaron la proporción masa de hígado/masa corporal más alta. Estos grupos fueron significativamente diferentes con respecto del grupo control. Ambos edulcorantes fueron promotores de la ruta metabólica de la lipogénesis y la posterior esteatosis hepática (hígado graso no alcohólico). Lo anterior concuerda con lo reportado por Kumamoto et al. (2013), quienes reportaron que ratas macho adultas con una dieta alta en fructosa presentaban una mayor relación de la masa del hígado/masa corporal. Ellos encontraron una relación, expresada en el porcentaje, del 3.0%. En la presente investigación el grupo de fructosa tuvo una relación de masa del hígado/masa corporal de 3.2±0.07%, por lo que este valor resultó un valor muy similar al reportado por Kumamoto et al. (2013).

Tabla 4.15. Pruebas de rangos múltiples para la masa de hígado en proporción con la masa corporal por edulcorante

<i>Grupo de edulcorante</i>	<i>Hígado/Masa corporal (%)</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Sucralosa	2.63 ± 0.282	0.0747592	A
Control	2.72 ± 0.293	0.0704836	A
Glucosa	2.80 ± 0.169	0.0704836	A
Sacarina	2.81 ± 0.230	0.0704836	A
Aspartame:Acesulfame	2.82 ± 0.172	0.0747592	A
Acesulfame	2.85 ± 0.2542	0.0704836	A
Sacarosa	3.06 ± 0.231	0.0704836	B
Fructosa	3.23 ± 0.474	0.0747592	B

Al realizar el análisis de varianza de la relación de la masa de hígado/masa corporal de las ratas hembra (Tabla 4.16) se obtuvo un valor P menor con un $\alpha=0.05$, por lo tanto, hubo una diferencia significativa entre la proporción del hígado respecto con su masa corporal entre los grupos de edulcorantes del mismo sexo.

Tabla 4.16. Análisis de varianza, ANDEVA, para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas hembra por grupo de edulcorante

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.000222	7	0.0000318	6.60	0.0001
Intra grupos	0.000144	30	0.00000481		
Total (Corr.)	0.000367	37			

Por lo anterior, se realizó la prueba de rangos múltiples para corroborar entre qué grupos hubieron diferencias significativas (Tabla 4.17), siendo posible apreciar que el grupo que ingirió fructosa fue significativamente mayor a todos los demás grupos y el grupo que ingirió sacarosa solamente fue significativamente diferente al grupo de sucralosa y al control.

A consecuencia de la ingesta alimenticia, los animales utilizan los carbohidratos preferentemente para la formación de *ATP*. Cuando la ingesta de carbohidratos es excesiva, la vía de la lipogénesis *de novo* permite su conversión en ácidos grasos que, a su vez, pueden ser esterificados a triglicéridos en el hígado. En el hígado graso no alcohólico el aumento de la glucemia y la hiperinsulinemia derivadas de la resistencia a insulina favorecen, de forma sinérgica, la conversión de glúcidos en ácidos grasos aumentando la expresión de las enzimas glucolíticas y lipogénicas mediante la activación de los factores de transcripción, *SREBP-1c*, *ChREBP* y receptor X hepático (*LXR*) los cuales inducen la expresión de los genes lipogénicos y glucolíticos que intervienen en la lipogénesis *de novo*, cuya sobreexpresión incrementa la infiltración grasa en el hígado (López-Oliva y Muñoz-Martínez, 2014).

La glucosa al ser transportada a tejidos y órganos insulino-dependientes y no insulino-dependientes mediante *GLUT-1*, *2* y *4*, ingresa a la vía glucolítica hasta la obtención de piruvato y la producción de *ATP* a través del ciclo de Krebs y la cadena de transporte de electrones. La regulación de la vía glucolítica está mediada por las concentraciones de citrato y *ATP* que inhiben

la actividad de enzimas como la fosfofructocinasa. Por el contrario, la fructosa no cuenta con puntos de regulación, es metabolizada en el hígado e ingresa a las células por los transportadores *GLUT-2*, 8 y 9. Si se requiere energía, la dihidroxiacetona fosfato (*DHA-P*) y el gliceraldehído pueden acoplarse a la vía glucolítica para la producción de *ATP*. En caso de no existir demanda energética, las triosas continúan la vía metabólica hacia la síntesis de ácidos grasos por lo que favorece aún más la acumulación de ácidos grasos en hígado (Loza-Medrano et al., 2019).

Tabla 4.17. Pruebas de rangos múltiples para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas hembra por grupo de edulcorante

<i>Grupo de edulcorante</i>	<i>Hígado/masa corporal (%)</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Sucralosa	2.78 ± 0.0152	A
Control	2.79 ± 0.0355	A
Sacarina	2.89 ± 0.0262	AB
Glucosa	2.91 ± 0.0131	AB
Aspartame:Acesulfame	2.95 ± 0.0148	AB
Acesulfame	2.98 ± 0.0256	AB
Sacarosa	3.13 ± 0.0172	B
Fructosa	3.63 ± 0.0136	C

Al contrario de lo sucedido con las ratas hembra, para las ratas macho, el análisis de varianza (Tabla 4.18) indicó que no hubieron diferencias estadísticamente significativas intergrupales ($P > 0.05$). Esto indica que, de los grupos de edulcorantes manejado, ninguno provocó un incremento significativo de la relación masa de hígado/masa corporal. Lo anterior puede deberse a que no se incrementó de manera significativa la actividad lipogénica en el hígado o esta no tuvo la influencia suficiente sobre la masa del hígado. Adicionalmente se debe recordar que los excesos energéticos pueden acumularse también en forma de tejido adiposo. Además, deberá ser necesario realizar tinciones histológicas ya que la masa del hígado podría ser la normal, pero podrían presentarse una mayor cantidad de vacuolas de grasa en el mismo. Lo anterior solamente se puede corroborar mediante tinciones histológicas. Donnelly et al. (2005) pudieron evaluar directamente lipogénesis *de novo* en individuos obesos e individuos con obesidad mórbida que se someten a una biopsia hepática programada. En estos individuos, más de un cuarto del palmitato presente en el hígado se debe a la lipogénesis *de novo*.

Tabla 4.18. Análisis de varianza, ANDEVA, para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas macho por grupo de edulcorante

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.0000741	7	0.0000106	2.07	0.0774
Intra grupos	0.000158	31	0.00000512		
Total (Corr.)	0.000233	38			

4.4. Análisis de la enzima ácido graso sintasa (*FAS*) en el extracto crudo del tejido hepático

El análisis de la actividad enzimática de la ácido graso sintasa (*FAS*) se realizó en el tejido hepático de 100 ratas (40 hembras+40 machos+20 basales) con el objetivo de observar la existencia de un efecto significativo tras el consumo de edulcorantes durante los 170 días de experimentación. Antes de realizar la eutanasia humanitaria las ratas tuvieron un ayuno de 8 horas para, una vez realizada la eutanasia, fueran extraídos los hígados por personal especializado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y almacenados a -20°C. Cada una de las muestras de tejido hepático fue sometido a un proceso de extracción de proteínas generándose un extracto crudo hepático. La actividad enzimática fue determinada en cada uno de los extractos hepáticos crudos para todos los especímenes.

Al realizar la prueba “t” de student se compararon las medias entre el grupo control y el grupo basal con el objetivo de evaluar si el tiempo transcurrido (170 días) influía en la actividad específica de la *FAS*. Dado que el valor-P calculado para las hembras y para los machos fue mayor que $\alpha=0.05$, no hubieron diferencias significativas en la actividad específica de la *FAS* atribuibles al tiempo.

A continuación, se muestra un ejemplo de cálculo para la determinación de la actividad específica (mU/mg) de la sintasa de ácidos grasos (*FAS*) para la rata hembra número 6 que consumió agua potable. En la Figura 4.1 se muestra la curva de avance de reacción para la muestra de la rata hembra número 6 del grupo control. En el panel 1 se observa la curva de avance de reacción en presencia de malonil-CoA y acetyl-CoA. En contraste, en el panel 2 se aprecia la curva de avance de reacción en ausencia de la malonil-CoA. Como era de esperarse, en ambos casos conforme

avanzaba el tiempo, disminuyó la absorbancia a 340nm. Esto indica que el *NADPH* estaba siendo consumido y transformado en *NADP*⁺. Asimismo, se aprecia que la pendiente de la curva de avance de reacción en ausencia de malonil-CoA fue menor a la pendiente cuando está presente, tal y como era esperado, ya que la segunda curva es la corrección de la oxidación intrínseca del *NADPH*.

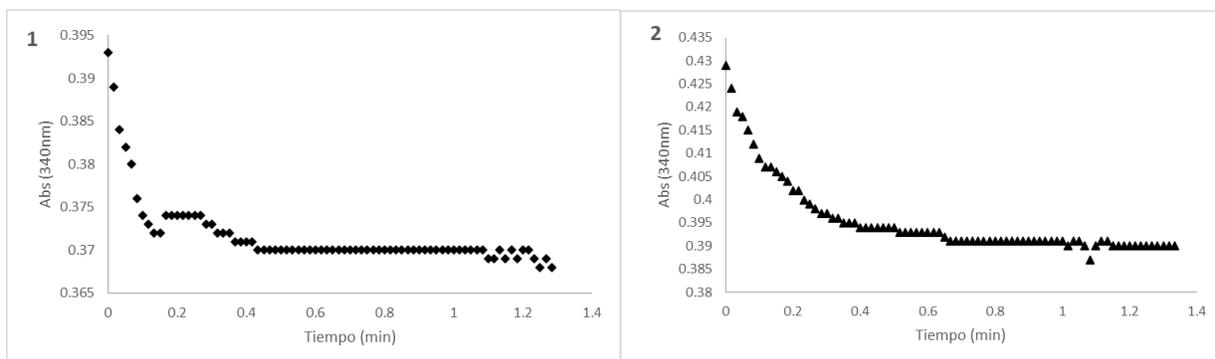


Figura 4.1. (1) Cinética de la actividad enzimática de la ácido graso sintasa de la rata hembra 6 del grupo control. (2) Corrección de la oxidación de *NADPH* en la cinética en ausencia de la malonil CoA de la rata hembra 6 del grupo control

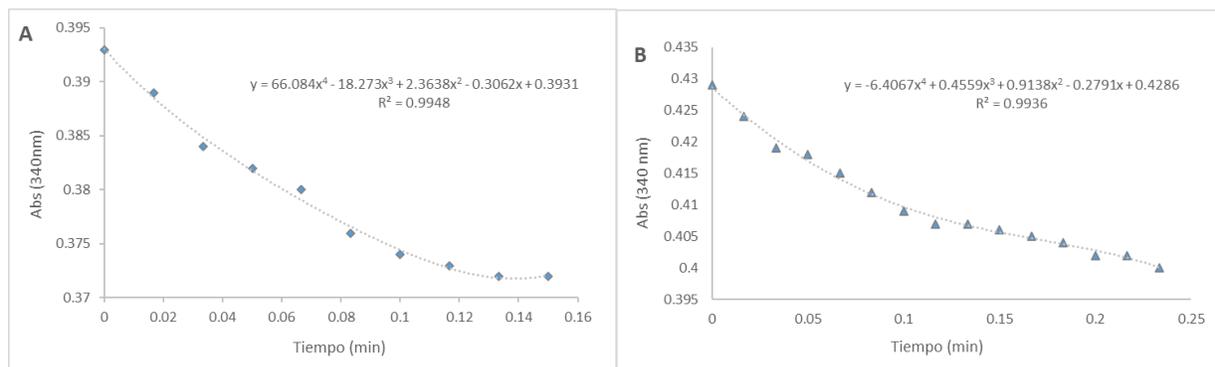


Figura 4.2. (A) Primera pendiente de la cinética de la actividad enzimática de la ácido graso sintasa de la rata hembra 6 del grupo control. (B) Primera pendiente de la corrección de la oxidación de *NADPH* en la cinética en ausencia de malonil-CoA

De la Figura 4.2 (A) la primera pendiente (velocidad inicial) fue de 0.3062; de la Figura 4.2 (B) la primera pendiente fue 0.2791 y con estos valores se aplicaron a la siguiente fórmula:

$$\frac{U}{mL} = \frac{|0.3062| - |0.2791| * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 0.980 U/mL$$

$$\frac{U}{mg} = \frac{0.980 U/mL}{124.4 \frac{mg}{mL}} = 0.0078 U/mg$$

$$\frac{mU}{mg} = 0.0078 U/mg * 1000 = 7.8 mU/mg$$

En la Tabla 4.19 se observan los resultados del análisis de varianza. Se aprecia que sí hubieron diferencias significativas intergrupales en las ratas macho, pues el valor P fue menor a 0.05. En la Tabla 4.20 se muestran los niveles de actividad de la sintasa de ácidos grasos (*FAS*) de las muestras de las ratas macho por clasificación de grupos homogéneos como resultado de la prueba de intervalos múltiples por el método de Duncan. Se ve que los grupos que bebieron sacarosa (67.3 ± 27.3 mU/mg), sacarina (54.4 ± 22.1 mU/mg) y glucosa (46.6 ± 21.1 mU/mg) tuvieron una diferencia significativa de más del doble de la actividad específica con respecto del grupo control (7.4 ± 4.5 mU/mg).

Tabla 4.19. ANDEVA de una vía para los niveles de actividad enzimática (mU/mg) específica de la *FAS* de los extractos hepáticos de las ratas macho

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	19272.0	7	2753.15	2.87	0.0191
Intra grupos	30656.5	32	958.016		
Total (Corr.)	49928.5	39			

Tabla 4.20. Media por grupo de la actividad específica (mU/mg) de la sintasa de ácidos grasos (*FAS*) para las ratas macho a los 160 días

<i>Grupo de edulcorante</i>	<i>Actividad específica (mU/mg ± DE)</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Aspartame:Acesulfame	5.3 ± 3.2	A
Control	7.4 ± 4.5	A
Acesulfame	9.6 ± 6.6	A
Fructosa	22.4 ± 8.8	AB
Sucralosa	30.5 ± 18.8	ABC
Glucosa	46.6 ± 21.1	BC
Sacarina	54.4 ± 22.1	BC
Sacarosa	67.3 ± 27.3	C

Nota: Los grupos que no comparten la misma letra difieren estadísticamente, método de Duncan al 95% de confianza

Koteish y Diehl. (2001) sugirieron que la fructosa, no la glucosa, es la causa principal de los cambios hepáticos después de la ingestión crónica de una dieta alta en sacarosa. Las dietas enriquecidas con una cantidad comparable de glucosa, en lugar de sacarosa o fructosa, no producen ninguna anomalía hepática. Este hallazgo puede atribuirse principalmente a las propiedades metabólicas únicas de la fructosa, es decir, su rápida absorción por el hígado y su entrada en la vía de la glucólisis después de pasar por alto la etapa reguladora de la

fosfofructoquinasa. Las ratas Wistar macho, cuando se les administró un 10% de fructosa en el agua potable durante 48 horas, la ácido graso sintasa se indujo junto con la síntesis de ácidos grasos *de novo*, por lo que la esterificación de los ácidos grasos *de novo* aumentaron significativamente. Sin embargo, la diferencia no resultó significativa desde el punto de vista estadístico, pues el grupo que bebió fructosa tuvo niveles de actividad de 22.4 ± 8.8 mU/mg con respecto del grupo control, el cual presentó niveles de 7.4 ± 4.5 mU/mg, aunque se observa que su actividad específica fue poco más del doble. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que existió una gran variabilidad intragrupos. Esta se puede atribuir a la variabilidad intrínseca entre los organismos y al hecho que varios especímenes del grupo fueron alojados en una misma jaula. Lo anterior propició el desarrollo de peleas y que, en algunos días, algunos especímenes ingirieran más alimento y bebidas que otros. Todo lo anterior contribuyó a que el valor de la desviación estándar fuera muy elevado y, por lo tanto, a pesar de que el valor del grupo fructosa resultó del doble que el del grupo control, el análisis estadístico indicó que no fueron significativos. La sintasa de ácidos grasos depende en gran medida de la cantidad de energía ingerida. Por tanto, estas peleas que contribuyeron a una probable desigual ingesta de alimento y bebida aumentaron la variabilidad intragrupos.

En cuanto a la actividad específica de la sacarina, ésta puede deberse a que la respuesta natural a la presencia de sabor dulce era la de esperar un aporte energético. Esta respuesta o estimulación causada por los edulcorantes no nutritivos prepara al tracto digestivo para recibir la carga de nutrientes y, al no estar presente la energía esperada, el organismo sufre una descompensación energética, misma que debe ser remediada con un incremento en el apetito. Los resultados de Vega-Jiménez (2019) indicaron una tendencia de alimento ingerido mayor en ratas macho del grupo sacarina ($3,624.8 \pm 89.4$ g) contra el grupo control ($3,553.7 \pm 160.3$ g). Esta tendencia también se observó en la cantidad de bebida ingerida. De acuerdo con Vega-Jiménez (2019) en el grupo de sacarina se ingirieron $6,822. \pm 1,194.6$ mL, un volumen mayor en comparación con el grupo control que solamente bebió $5,430 \pm 739.3$ mL. Lo anterior fue confirmado por Swithers et al. (2010) quienes afirmaron que el uso continuo de edulcorantes artificiales puede alterar la respuesta provocando una disminución del efecto termogénico de los alimentos, lo cual provoca una compensación calórica en la que el organismo detecta una ingesta menor de calorías y opta por almacenar las calorías de comidas subsecuentes produciendo una ganancia de masa.

Para las ratas hembra, dado que el valor-P de la razón-F fue menor que 0.05 (Tabla 4.21), existieron diferencias estadísticamente significativas entre la actividad de la *FAS* en los extractos hepáticos de un edulcorante y otro.

Tabla 4.21. ANDEVA de una vía para los niveles de actividad enzimática (mU/mg) específica de la *FAS* de los extractos hepáticos de las ratas hembra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	19870.8	7	2838.69	2.80	0.0218
Intra grupos	32492.6	32	1015.39		
Total (Corr.)	52363.4	39			

La prueba de rangos múltiples indicó una actividad mayor en los grupos que bebieron edulcorantes nutritivos: glucosa (80.5 ± 24.9), fructosa (57.3 ± 20.4) y sacarosa (38.1 ± 12.1). Estos grupos presentaron niveles de actividad enzimática específica del doble o más de la actividad obtenida por el grupo control (Tabla 4.22).

El consumo de fructosa induce una sobreexpresión de *SREBP-1c* y *ChREBP*, lo cual promueve la expresión de enzimas lipogénicas (*FAS*, *ACC*, *ELOVL6*, *GPAT*, *DGAT*). En la síntesis de ácidos grasos se produce ácido palmítico que mediante reacciones de insaturación y elongación forma triglicéridos. Ante la ausencia de una demanda energética y el exceso de fructosa, el piruvato proveniente de la glicólisis es convertido a acetil-CoA, sin entrar al ciclo de Krebs. El citrato intermediario del ciclo de Krebs es transportado al citoplasma, en donde, por acción de la adenosina trifosfato citrato liasa, es transformado en acetil-CoA. La acetil-CoA es sustrato de la *ACC* generándose malonil-CoA. Esta molécula es utilizada por el complejo multienzimático *FAS*, extendiendo la cadena de acilos al adicionar dos carbonos por ciclo hasta la formación del ácido palmítico (16 carbonos). El ácido palmítico es el principal producto de la síntesis *de novo* y el ácido graso más utilizado para la síntesis de triacilglicéridos (Loza-Medrano et al., 2019; Moore et al., 2014).

La diferencia metabólica entre la glucosa y la fructosa se atribuye principalmente al punto de control presente en el catabolismo de la glucosa, este punto de control está ausente en el catabolismo de la fructosa, lo que favorece la acumulación y utilización de triosas para la síntesis

de ácidos grasos y glicerol, por lo que se hubiese esperado una mayor actividad enzimática en el grupo de fructosa seguido por sacarosa y, por último, de glucosa. Los resultados observados pudieran atribuirse a las peleas que contribuyeron a una probable desigual ingesta de alimento y bebida y, por lo tanto, a un incremento en variabilidad intragrupos. Sin embargo, sí se esperaba una mayor actividad de *FAS* por parte del grupo y/o de los grupos que ingirieron glúcidos simples.

Durante la eutanasia los especímenes se encontraban en condiciones de ayuno lo que indica que se estaba llevando a cabo la ruta de la lipólisis y no de la lipogénesis, por lo que se hubiera esperado una actividad específica menor o igual al grupo control (Schultz et al., 2015).

Tabla 4.22. Media por grupo de la actividad específica (mU/mg) de la sintasa de ácidos grasos (*FAS*) para las ratas hembra a los 160 días

<i>Grupo de edulcorante</i>	<i>Actividad específica (mU/mg ± DE)</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Control	11.1 ± 3.9	A
Acesulfame	15.6 ± 7.8	A
Aspartame:Acesulfame	17.1 ± 6.0	A
Sacarina	25.0 ± 10.8	AB
Sucralosa	29.1 ± 10.8	AB
Sacarosa	38.1 ± 12.1	B
Fructosa	57.3 ± 20.4	BC
Glucosa	80.5 ± 24.9	C

Nota: Grupos que no comparten la misma letra difieren estadísticamente, método de Duncan al 95% de confianza

Los efectos metabólicos adversos de la alta la ingesta de fructosa se ha relacionado con su provisión de contar con un mayor sustrato para la lipogénesis *de novo*, la fructosa sola aumenta la actividad de las enzimas lipogénicas, incluida la sintasa de ácidos grasos (Moore et al., 2014).

Andrejić et al. (2013) advirtieron que los efectos postingestivos de la sacarina no se limitan únicamente al páncreas exocrino, sino que también están presentes en el hígado, ya que la sacarina es un factor etiológico de hepatotoxicidad con una mayor actividad de las enzimas hepáticas. En su estudio con ratas Wistar el grupo de sacarina tuvo un nivel de aspartato aminotransferasa (*AST*) significativamente mayor con respecto del control, sin diferencias en cuanto al sexo de los animales. La aspartato aminotransferasa (*AST* o *GOT*) es una enzima que se

libera con la destrucción de las células que contienen transaminasas, por lo que la elevación de su concentración en sangre se traduce en una lesión de aquellos tejidos en los que se encuentran. La *AST* se encuentra dentro de las células de diversos órganos y tejidos como el hígado, el riñón, el músculo-esquelético y el cardíaco, el páncreas o el cerebro, aunque procederá casi siempre del hígado, indicando la destrucción de las células hepáticas (Busto-Bea y Herrero-Quirós, 2015). El parámetro de *AST* sanguíneo deberá evaluarse en futuras investigaciones ya que es un indicador de daño hepático.

Finalmente, con base a estos resultados se demuestra que sí hubo un impacto significativo sobre los niveles de actividad de la sintasa de ácidos grasos (*FAS*) atribuible al consumo de edulcorantes. El incremento en la actividad de la *FAS* indica una mayor actividad de la ruta metabólica de la lipogénesis, por lo que a continuación, en el capítulo 5 se dan las conclusiones y recomendaciones de esta investigación.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Partiendo del objetivo general de esta investigación el cual era el “Evaluar el consumo crónico (170 días) de edulcorantes nutritivos y no nutritivos sobre los niveles de actividad de la enzima ácido graso sintasa (*FAS*) usando extractos de hepatocitos de ratas Wistar en condiciones de ayuno previo a eutanasia y relacionarlo con la masa corporal y la masa del hígado”, se puede concluir lo siguiente:

- * El factor edulcorante fue significativo y contribuyó a la existencia de diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la actividad específica de la enzima ácido graso sintasa (*FAS*) en condiciones de ayuno en las ratas hembra y macho a los 170 días de consumo crónico de edulcorantes.
- * En ratas macho, los edulcorantes nutritivos fructosa, sacarosa, así como el edulcorante no nutritivo sacarina, presentaron una mayor actividad específica de la ácido graso sintasa con respecto del grupo control.
- * En ratas hembra, los edulcorantes nutritivos fructosa, sacarosa y glucosa, presentaron una mayor actividad específica de la ácido graso sintasa con respecto del grupo control
- * La tendencia general observada fue que los edulcorantes nutritivos incrementaron los niveles de la *FAS* en el hígado, lo cual concuerda con lo reportado previamente en la literatura. En cuanto los edulcorantes no nutritivos únicamente la sacarina provocó incrementos significativos en la actividad, aunque los mecanismos por los cuales la sacarina provocó dicho incremento no están aún elucidados; sin embargo, se ha reportado

a través de diversos indicadores como los niveles de *AST* que la sacarina provoca daños hepáticos.

- * A los 170 días del experimento no hubo una diferencia significativa en la presencia de la ácido graso sintasa en condiciones de ayuno entre los grupos control y el grupo basal. Es decir, el tiempo no resultó ser un factor significativo.
- * La masa corporal a los 170 días de la ingesta de edulcorantes fue mayor en el grupo de las ratas macho que en de las ratas hembra debido a la naturaleza de su sexo.
- * Los grupos de fructosa y sacarosa fueron los grupos de edulcorantes que presentaron una masa mayor de hígado con respecto del tamaño del espécimen, así como una mayor actividad específica de *FAS* en ratas hembra.

5.2. Recomendaciones

- * Realizar tinciones histológicas del hígado, así como del tejido adiposo y otros órganos blandos para relacionar la cantidad de vacuolas de grasa y/o daño en las células con el consumo de los edulcorantes. Un ejemplo se hizo con tejido pericárdico (Martínez-Tinajero et al., 2008) y hepático (Martínez et al., 2010).
- * Continuar con estudios por sexo ya que en diversos parámetros evaluados se encontraron diferencias significativas atribuibles a este factor.
- * Evaluar el efecto de otras dietas con el consumo de edulcorantes, ya que en este experimento se emplearon dietas balanceadas y actualmente la mayoría de la población que ingiere edulcorantes lo hace justo con dietas desbalanceadas ricas en grasas saturadas, glúcidos simples y una alta densidad energética. Lo anterior permitiría tener un acercamiento a las tendencias reales de consumo en humanos.

- * Evaluar el contenido de palmitato en el hígado y determinar que se deba a la lipogénesis *de novo* y correlacionarlo con la actividad enzimática de la *FAS*.
- * Realizar un patrón de citólisis para determinar los niveles de *AST* y relacionarlos con los niveles enzimáticos y datos histológicos.

- * Separar a los animales modelo cuando lleguen a una edad donde los resultados del experimento puedan sesgarse por las peleas (Mendoza-Pérez et al., 2019).

ANEXOS

ANEXO A. Cálculos de FAS para los grupos en estudio (valores de actividad específica) y tablas de valores para cada espécimen

Tabla A.1. Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo control

Código	Masa corporal (g)	Hígado (g)	Hígado/masa corporal (%)	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M2	503.00	14.30	2.84	5.61
M8	447.90	12.60	2.81	5.87
M55	490.90	14.07	2.87	14.17
M56	417.70	9.99	2.39	2.80
M57	471.00	11.38	2.42	8.6
H6	251.70	6.39	2.54	7.87
H22	274.40	7.88	2.87	25.79
H41	238.20	6.30	2.64	6.30
H57	241.80	8.16	3.37	11.04
H71	232.90	5.87	2.52	4.54

Tabla A.2. Cálculos FAS para cada rata del grupo control

Código	U/mL	U/mg	mU/mg	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M2	$\frac{ 0.3346 - 0.3161 * 0.5 * 11}{6.22 * 0.02} = 0.8179 \text{ U/mL}$	$\frac{0.8179 \text{ U/mL}}{145.76 \text{ mg/mL}} = 0.0056 \text{ U/mg}$	$0.0056 \text{ U/mg} * 1000$	5.61
M8	$\frac{ 0.3043 - 0.2832 * 0.5 * 4}{6.22 * 0.02} = 0.3392 \text{ U/mL}$	$\frac{0.3392 \text{ U/mL}}{57.76 \text{ mg/mL}} = 0.0058 \text{ U/mg}$	$0.0058 \text{ U/mg} * 1000$	5.87
M55	$\frac{ 0.795 - 0.7466 * 0.5 * 13}{6.22 * 0.02} = 2.5289 \text{ U/mL}$	$\frac{2.5289 \text{ U/mL}}{178.42 \text{ mg/mL}} = 0.0141 \text{ U/mg}$	$0.0141 \text{ U/mg} * 1000$	14.17
M56	$\frac{ 0.5056 - 0.4945 * 0.5 * 4}{6.22 * 0.02} = 0.1784 \text{ U/mL}$	$\frac{0.1784 \text{ U/mL}}{63.53 \text{ mg/mL}} = 0.0028 \text{ U/mg}$	$0.0028 \text{ U/mg} * 1000$	2.80
M57	$\frac{ 0.3352 - 0.3069 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 1.0237 \text{ U/mL}$	$\frac{1.0237 \text{ U/mL}}{118.93 \text{ mg/mL}} = 0.0086 \text{ U/mg}$	$0.0086 \text{ U/mg} * 1000$	8.6
H6	$\frac{ 0.3062 - 0.2791 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 0.9803 \text{ U/mL}$	$\frac{0.9803 \text{ U/mL}}{124.41 \text{ mg/mL}} = 0.0078 \text{ U/mg}$	$0.0078 \text{ U/mg} * 1000$	7.87
H22	$\frac{ 0.41 - 0.325 * 0.5 * 8}{6.22 * 0.02} = 2.7331 \text{ U/mL}$	$\frac{2.7331 \text{ U/mL}}{105.94 \text{ mg/mL}} = 0.0257 \text{ U/mg}$	$0.0257 \text{ U/mg} * 1000$	25.79
H41	$\frac{ 0.3541 - 0.3329 * 0.5 * 11}{6.22 * 0.02} = 0.9372 \text{ U/mL}$	$\frac{0.9372 \text{ U/mL}}{148.64 \text{ mg/mL}} = 0.0063 \text{ U/mg}$	$0.0063 \text{ U/mg} * 1000$	6.30
H57	$\frac{ 0.5396 - 0.5026 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 1.3384 \text{ U/mL}$	$\frac{1.3384 \text{ U/mL}}{121.23 \text{ mg/mL}} = 0.01103 \text{ U/mg}$	$0.01103 \text{ U/mg} * 1000$	11.04
H71	$\frac{ 0.3377 - 0.3224 * 0.5 * 13}{6.22 * 0.02} = 0.7994 \text{ U/mL}$	$\frac{0.7994 \text{ U/mL}}{176.11 \text{ mg/mL}} = 0.0045 \text{ U/mg}$	$0.0045 \text{ U/mg} * 1000$	4.54

Nota: Código M es rata macho y código H es rata hembra

Tabla A.3. Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo sacarina

Código	Masa corporal (g)	Hígado (g)	Hígado/masa corporal (%)	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M18	481.20	13.41	2.79	50.01
M30	498.80	12.34	2.47	55.55
M51	515.30	15.15	2.94	124.03
M60	519.80	13.68	2.63	21.08
M80	461.60	12.92	2.80	22.24
H11	282.30	7.56	2.68	22.24
H33	243.90	8.07	3.31	33.83
H29	253.00	7.32	2.89	22.75
H45	195.60	5.21	2.66	31.04
H72	266.50	7.86	2.95	17.00

Tabla A.4. Cálculos FAS para cada rata del grupo sacarina

Código	U/mL	U/mg	mU/mg	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M18	$\frac{ 0.9187 - 0.7564 * 0.5 * 11}{6.22 * 0.02} = 6.9147 \text{ U/mL}$	$\frac{6.9147 \text{ U/mL}}{138.26 \text{ mg/mL}} = 0.0500 \text{ U/mg}$	$0.0500 \text{ U/mg} * 1000$	50.01
M30	$\frac{ 0.627 - 0.447 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 6.5112 \text{ U/mL}$	$\frac{6.5112 \text{ U/mL}}{117.19 \text{ mg/mL}} = 0.0555 \text{ U/mg}$	$0.0555 \text{ U/mg} * 1000$	55.55
M51	$\frac{ 1.0714 - 0.664 * 0.5 * 5}{6.22 * 0.02} = 8.0235 \text{ U/mL}$	$\frac{8.0235 \text{ U/mL}}{64.68 \text{ mg/mL}} = 0.1240 \text{ U/mg}$	$0.1240 \text{ U/mg} * 1000$	124.03
M60	$\frac{ 0.3346 - 0.3161 * 0.5 * 11}{6.22 * 0.02} = 0.8402 \text{ U/mL}$	$\frac{0.8402 \text{ U/mL}}{145.76 \text{ mg/mL}} = 0.0057 \text{ U/mg}$	$0.0057 \text{ U/mg} * 1000$	21.08
M80	$\frac{ 0.1272 - 0.0586 * 0.5 * 7}{6.22 * 0.02} = 1.9300 \text{ U/mL}$	$\frac{1.9300 \text{ U/mL}}{122.96 \text{ mg/mL}} = 0.0222 \text{ U/mg}$	$0.0222 \text{ U/mg} * 1000$	22.24
H11	$\frac{ 0.1833 - 0.1108 * 0.5 * 10}{6.22 * 0.02} = 3.0888 \text{ U/mL}$	$\frac{3.0888 \text{ U/mL}}{138.83 \text{ mg/mL}} = 0.0222 \text{ U/mg}$	$0.0222 \text{ U/mg} * 1000$	22.24
H33	$\frac{ 0.6174 - 0.5071 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 3.9456 \text{ U/mL}$	$\frac{3.9456 \text{ U/mL}}{116.62 \text{ mg/mL}} = 0.0338 \text{ U/mg}$	$0.0338 \text{ U/mg} * 1000$	33.83
H29	$\frac{ 0.2431 - 0.1689 * 0.5 * 10}{6.22 * 0.02} = 2.9226 \text{ U/mL}$	$\frac{2.9226 \text{ U/mL}}{128.45 \text{ mg/mL}} = 0.0227 \text{ U/mg}$	$0.0227 \text{ U/mg} * 1000$	22.75
H45	$\frac{ 0.4442 - 0.3433 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 3.8526 \text{ U/mL}$	$\frac{3.8526 \text{ U/mL}}{124.12 \text{ mg/mL}} = 0.0310 \text{ U/mg}$	$0.0310 \text{ U/mg} * 1000$	31.04
H72	$\frac{ 0.5731 - 0.5176 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 1.9853 \text{ U/mL}$	$\frac{1.9853 \text{ U/mL}}{116.62 \text{ mg/mL}} = 0.0170 \text{ U/mg}$	$0.0170 \text{ U/mg} * 1000$	17.00

Nota: Código M es rata macho y código H es rata hembra

Tabla A.5. Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo acesulfame de potasio

Código	Masa corporal (g)	Hígado (g)	Hígado/masa corporal (%)	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M1	442.20	11.16	2.52	8.65
M25	511.40	13.76	2.69	8.62
M45	433.50	12.11	2.79	18.91
M58	460.70	13.86	3.01	6.68
M76	430.00	11.12	2.59	2.99
H9	236.30	7.36	3.11	2.45
H17	268.50	7.83	2.92	12.41
H19	228.90	6.81	2.98	47.9
H48	204.30	6.76	3.31	6.87
H80	241.20	6.31	2.62	7.36

Tabla A.6. Cálculos FAS para cada rata del grupo acesulfame de potasio

Código	U/mL	U/mg	mU/mg	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M1	$\frac{ 0.0386 - 0.0104 * 0.5 * 8}{6.22 * 0.02} = 0.9520 \text{ U/mL}$	$\frac{0.9520 \text{ U/mL}}{109.98 \text{ mg/mL}} = 0.0086 \text{ U/mg}$	$0.0086 \text{ U/mg} * 1000$	8.65
M25	$\frac{ 0.7887 - 0.7602 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 1.0882 \text{ U/mL}$	$\frac{1.0882 \text{ U/mL}}{126.14 \text{ mg/mL}} = 0.0086 \text{ U/mg}$	$0.0086 \text{ U/mg} * 1000$	8.62
M45	$\frac{ 0.3297 - 0.2684 * 0.5 * 19}{6.22 * 0.02} = 4.6073 \text{ U/mL}$	$\frac{4.6073 \text{ U/mL}}{243.63 \text{ mg/mL}} = 0.0189 \text{ U/mg}$	$0.0189 \text{ U/mg} * 1000$	18.91
M58	$\frac{ 0.3297 - 0.3079 * 0.5 * 10}{6.22 * 0.02} = 0.9200 \text{ U/mL}$	$\frac{0.9200 \text{ U/mL}}{137.68 \text{ mg/mL}} = 0.0066 \text{ U/mg}$	$0.0066 \text{ U/mg} * 1000$	6.68
M76	$\frac{ 0.0936 - 0.0839 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 0.3547 \text{ U/mL}$	$\frac{0.3547 \text{ U/mL}}{118.64 \text{ mg/mL}} = 0.0029 \text{ U/mg}$	$0.0029 \text{ U/mg} * 1000$	2.99
H9	$\frac{ 0.2898 - 0.2818 * 0.5 * 12}{6.22 * 0.02} = 0.3922 \text{ U/mL}$	$\frac{0.3922 \text{ U/mL}}{159.61 \text{ mg/mL}} = 0.0024 \text{ U/mg}$	$0.0024 \text{ U/mg} * 1000$	2.45
H17	$\frac{ 0.981 - 0.9405 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 1.4650 \text{ U/mL}$	$\frac{1.4650 \text{ U/mL}}{118.06 \text{ mg/mL}} = 0.0124 \text{ U/mg}$	$0.0124 \text{ U/mg} * 1000$	12.41
H19	$\frac{ 0.4217 - 0.266 * 0.5 * 8}{6.22 * 0.02} = 5.2567 \text{ U/mL}$	$\frac{5.2567 \text{ U/mL}}{109.69 \text{ mg/mL}} = 0.0479 \text{ U/mg}$	$0.0479 \text{ U/mg} * 1000$	47.9
H48	$\frac{ 0.8636 - 0.8413 * 0.5 * 7}{6.22 * 0.02} = 0.6274 \text{ U/mL}$	$\frac{0.6274 \text{ U/mL}}{91.23 \text{ mg/mL}} = 0.0068 \text{ U/mg}$	$0.0068 \text{ U/mg} * 1000$	6.87
H80	$\frac{ 0.9932 - 0.9692 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 0.8585 \text{ U/mL}$	$\frac{0.8585 \text{ U/mL}}{116.62 \text{ mg/mL}} = 0.0073 \text{ U/mg}$	$0.0073 \text{ U/mg} * 1000$	7.36

Nota: Código M es rata macho y código H es rata hembra

Tabla A.7. Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo sucralosa

Código	Masa corporal (g)	Hígado (g)	Hígado/masa corporal (%)	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M23	489.80	12.48	2.55	14.63
M44	496.20	10.18	2.05	35.32
M68	400.00	10.73	2.68	46.20
M35	459.90	12.97	2.82	32.41
M39	417.20	9.64	2.31	23.56
H16	270.30	7.65	2.83	28.65
H30	229.20	5.87	2.56	44.57
H44	250.40	8.47	3.38	30.76
H56	228.20	6.65	2.91	24.61
H79	263.10	7.40	2.81	16.20

Tabla A.8. Cálculos FAS para cada rata del grupo sucralosa

Código	U/mL	U/mg	mU/mg	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M23	$\frac{ 0.8261 - 0.7787 * 0.5 * 5}{6.22 * 0.02} = 1.0478 \text{ U/mL}$	$\frac{1.0478 \text{ U/mL}}{71.61 \text{ mg/mL}} = 0.0146 \text{ U/mg}$	$0.0146 \text{ U/mg} * 1000$	14.63
M44	$\frac{ 0.4539 - 0.3396 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 4.0887 \text{ U/mL}$	$\frac{4.0887 \text{ U/mL}}{115.75 \text{ mg/mL}} = 0.0353 \text{ U/mg}$	$0.0353 \text{ U/mg} * 1000$	35.32
M68	$\frac{ 0.5692 - 0.4192 * 0.5 * 6}{6.22 * 0.02} = 3.9188 \text{ U/mL}$	$\frac{3.9188 \text{ U/mL}}{84.88 \text{ mg/mL}} = 0.0462 \text{ U/mg}$	$0.0462 \text{ U/mg} * 1000$	46.20
M35	$\frac{ 0.3346 - 0.3161 * 0.5 * 8}{6.22 * 0.02} = 3.3308 \text{ U/mL}$	$\frac{3.3308 \text{ U/mL}}{102.77 \text{ mg/mL}} = 0.0324 \text{ U/mg}$	$0.0324 \text{ U/mg} * 1000$	32.41
M39	$\frac{ 0.7613 - 0.6846 * 0.5 * 10}{6.22 * 0.02} = 3.2369 \text{ U/mL}$	$\frac{3.2369 \text{ U/mL}}{137.39 \text{ mg/mL}} = 0.0235 \text{ U/mg}$	$0.0235 \text{ U/mg} * 1000$	23.56
H16	$\frac{ 0.1564 - 0.0848 * 0.5 * 12}{6.22 * 0.02} = 3.4821 \text{ U/mL}$	$\frac{3.4821 \text{ U/mL}}{121.52 \text{ mg/mL}} = 0.0286 \text{ U/mg}$	$0.0286 \text{ U/mg} * 1000$	28.65
H30	$\frac{ 0.8091 - 0.664 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 5.3654 \text{ U/mL}$	$\frac{5.3654 \text{ U/mL}}{120.37 \text{ mg/mL}} = 0.0445 \text{ U/mg}$	$0.0445 \text{ U/mg} * 1000$	44.57
H44	$\frac{ 0.6467 - 0.5471 * 0.5 * 2}{6.22 * 0.02} = 0.8006 \text{ U/mL}$	$\frac{0.8006 \text{ U/mL}}{26.02 \text{ mg/mL}} = 0.0307 \text{ U/mg}$	$0.0307 \text{ U/mg} * 1000$	30.76
H56	$\frac{ 0.3037 - 0.215 * 0.5 * 10}{6.22 * 0.02} = 3.7433 \text{ U/mL}$	$\frac{3.7433 \text{ U/mL}}{152.11 \text{ mg/mL}} = 0.0246 \text{ U/mg}$	$0.0246 \text{ U/mg} * 1000$	24.61
H79	$\frac{ 1.372 - 1.3196 * 0.5 * 11}{6.22 * 0.02} = 2.3377 \text{ U/mL}$	$\frac{2.3377 \text{ U/mL}}{144.32 \text{ mg/mL}} = 0.0162 \text{ U/mg}$	$0.0162 \text{ U/mg} * 1000$	16.20

Nota: Código M es rata macho y código H es rata hembra

Tabla A.9. Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo glucosa

Código	Masa corporal (g)	Hígado (g)	Hígado/masa corporal (%)	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M27	509.90	13.77	2.70	136.3
M48	435.80	11.33	2.60	30.04
M64	461.90	13.54	2.93	10.87
M71	429.10	11.57	2.70	44.07
M67	479.10	12.39	2.59	12.30
H5	260.80	7.77	2.98	62.84
H24	274.70	8.16	2.97	55.06
H36	253.30	7.77	3.07	157.85
H58	234.70	6.50	2.77	97.32
H78	251.00	6.98	2.78	31.22

Tabla A.10. Cálculos FAS para cada rata del grupo glucosa

Código	U/mL	U/mg	mU/mg	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M27	$\frac{ 0.49 - 0.0426 * 0.5 * 6}{6.22 * 0.02} = 10.4297 \text{ U/mL}$	$\frac{10.4297 \text{ U/mL}}{76.52 \text{ mg/mL}} = 0.1363 \text{ U/mg}$	$0.1363 \text{ U/mg} * 1000$	136.3
M48	$\frac{ 0.1002 - 0.003 * 0.5 * 11}{6.22 * 0.02} = 4.2583 \text{ U/mL}$	$\frac{4.2583 \text{ U/mL}}{141.72 \text{ mg/mL}} = 0.0300 \text{ U/mg}$	$0.0300 \text{ U/mg} * 1000$	30.04
M64	$\frac{ 0.5503 - 0.5148 * 0.5 * 7}{6.22 * 0.02} = 1.0701 \text{ U/mL}$	$\frac{1.0701 \text{ U/mL}}{98.44 \text{ mg/mL}} = 0.0108 \text{ U/mg}$	$0.0108 \text{ U/mg} * 1000$	10.87
M71	$\frac{ 0.3583 - 0.2149 * 0.5 * 7}{6.22 * 0.02} = 3.9193 \text{ U/mL}$	$\frac{3.9193 \text{ U/mL}}{88.92 \text{ mg/mL}} = 0.044 \text{ U/mg}$	$0.044 \text{ U/mg} * 1000$	44.07
M67	$\frac{ 0.2423 - 0.1996 * 0.5 * 12}{6.22 * 0.02} = 2.0594 \text{ U/mL}$	$\frac{2.0594 \text{ U/mL}}{167.4 \text{ mg/mL}} = 0.0123 \text{ U/mg}$	$0.0123 \text{ U/mg} * 1000$	12.30
H5	$\frac{ 0.8561 - 0.6514 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 7.0756 \text{ U/mL}$	$\frac{7.0756 \text{ U/mL}}{112.58 \text{ mg/mL}} = 0.0628 \text{ U/mg}$	$0.0628 \text{ U/mg} * 1000$	62.84
H24	$\frac{ 0.445 - 0.2665 * 0.5 * 11}{6.22 * 0.02} = 7.6766 \text{ U/mL}$	$\frac{7.6766 \text{ U/mL}}{139.41 \text{ mg/mL}} = 0.055 \text{ U/mg}$	$0.055 \text{ U/mg} * 1000$	55.06
H36	$\frac{ 0.579 - 0.0657 * 0.5 * 6}{6.22 * 0.02} = 11.7596 \text{ U/mL}$	$\frac{11.7596 \text{ U/mL}}{74.49 \text{ mg/mL}} = 0.1578 \text{ U/mg}$	$0.1578 \text{ U/mg} * 1000$	157.85
H58	$\frac{ 0.7888 - 0.4711 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 11.2369 \text{ U/mL}$	$\frac{11.2369 \text{ U/mL}}{115.46 \text{ mg/mL}} = 0.0973 \text{ U/mg}$	$0.0973 \text{ U/mg} * 1000$	97.32
H78	$\frac{ 0.112 - 0.01 * 0.5 * 6}{6.22 * 0.02} = 2.5418 \text{ U/mL}$	$\frac{2.5418 \text{ U/mL}}{81.42 \text{ mg/mL}} = 0.0312 \text{ U/mg}$	$0.0312 \text{ U/mg} * 1000$	31.22

Nota: Código M es rata macho y código H es rata hembra

Tabla A.11. Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo fructosa

Código	Masa corporal (g)	Hígado (g)	Hígado/masa corporal (%)	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M13	531.30	15.61	2.94	22.63
M17	563.50	13.51	2.40	43.36
M28	488.00	15.36	3.15	8.87
M38	458.00	13.52	2.95	20.03
M42	532.80	14.62	2.74	18.91
H18	256.10	9.76	3.81	102.75
H28	266.60	7.98	2.99	61.04
H31	220.80	7.68	3.48	30.85
H70	247.50	8.95	3.62	30.68
H73	242.90	8.83	3.64	62.97

Tabla A.12. Cálculos FAS para cada rata del grupo fructosa

Código	U/mL	U/mg	mU/mg	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M13	$\frac{ 0.295 - 0.2215 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 2.5996 \text{ U/mL}$	$\frac{2.5996 \text{ U/mL}}{114.89 \text{ mg/mL}} = 0.0226 \text{ U/mg}$	$0.0226 \text{ U/mg} * 1000$	22.63
M17	$\frac{ 0.3287 - 0.1872 * 0.5 * 14}{6.22 * 0.02} = 7.9622 \text{ U/mL}$	$\frac{7.9622 \text{ U/mL}}{183.61 \text{ mg/mL}} = 0.0433 \text{ U/mg}$	$0.0433 \text{ U/mg} * 1000$	43.36
M28	$\frac{ 0.3548 - 0.326 * 0.5 * 8}{6.22 * 0.02} = 0.9376 \text{ U/mL}$	$\frac{0.9376 \text{ U/mL}}{105.65 \text{ mg/mL}} = 0.0088 \text{ U/mg}$	$0.0088 \text{ U/mg} * 1000$	8.87
M38	$\frac{ 0.6904 - 0.6253 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 2.4857 \text{ U/mL}$	$\frac{2.4857 \text{ U/mL}}{124.12 \text{ mg/mL}} = 0.0200 \text{ U/mg}$	$0.0200 \text{ U/mg} * 1000$	20.03
M42	$\frac{ 0.9105 - 0.8479 * 0.5 * 4}{6.22 * 0.02} = 0.9561 \text{ U/mL}$	$\frac{0.9561 \text{ U/mL}}{50.54 \text{ mg/mL}} = 0.0189 \text{ U/mg}$	$0.0189 \text{ U/mg} * 1000$	18.91
H18	$\frac{ 0.5741 - 0.2384 * 0.5 * 10}{6.22 * 0.02} = 13.7626 \text{ U/mL}$	$\frac{13.7626 \text{ U/mL}}{133.93 \text{ mg/mL}} = 0.1027 \text{ U/mg}$	$0.1027 \text{ U/mg} * 1000$	102.75
H28	$\frac{ 0.99 - 0.7921 * 0.5 * 11}{6.22 * 0.02} = 8.5109 \text{ U/mL}$	$\frac{8.5109 \text{ U/mL}}{139.41 \text{ mg/mL}} = 0.0610 \text{ U/mg}$	$0.0610 \text{ U/mg} * 1000$	61.04
H31	$\frac{ 0.1057 - 0.0053 * 0.5 * 10}{6.22 * 0.02} = 3.9546 \text{ U/mL}$	$\frac{3.9546 \text{ U/mL}}{128.16 \text{ mg/mL}} = 0.0308 \text{ U/mg}$	$0.0308 \text{ U/mg} * 1000$	30.85
H70	$\frac{ 0.104 - 0.0038 * 0.5 * 10}{6.22 * 0.02} = 3.9065 \text{ U/mL}$	$\frac{3.9065 \text{ U/mL}}{127.29 \text{ mg/mL}} = 0.0306 \text{ U/mg}$	$0.0306 \text{ U/mg} * 1000$	30.68
H73	$\frac{ 0.595 - 0.39 * 0.5 * 12}{6.22 * 0.02} = 9.8874 \text{ U/mL}$	$\frac{9.8874 \text{ U/mL}}{157.01 \text{ mg/mL}} = 0.0629 \text{ U/mg}$	$0.0629 \text{ U/mg} * 1000$	62.97

Nota: Código M es rata macho y código H es rata hembra

Tabla A.13. Valores de cada parámetro evaluado para rata del grupo sacarosa

Código	Masa corporal (g)	Hígado (g)	Hígado/masa corporal (%)	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M16	527.20	16.30	3.09	138.77
M32	435.90	13.06	3.00	34.05
M41	494.80	13.53	2.73	61.58
M61	457.10	12.54	2.74	38.34
M66	456.80	15.56	3.41	66.51
H32	278.10	9.15	3.29	57.87
H34	251.60	7.65	3.04	26.40
H52	211.70	6.11	2.89	33.95
H68	270.70	8.68	3.21	26.92
H55	223.80	7.32	3.27	44.66

Tabla A.14. Cálculos FAS para cada rata del grupo sacarosa

Código	U/mL	U/mg	mU/mg	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M16	$\frac{ 0.5192 - 0.068 * 0.5 * 11}{6.22 * 0.02} = 19.9485 \text{ U/mL}$	$\frac{19.9485 \text{ U/mL}}{143.74 \text{ mg/mL}} = 0.1387 \text{ U/mg}$	$0.1387 \text{ U/mg} * 1000$	138.77
M32	$\frac{ 0.2408 - 0.13 * 0.5 * 10}{6.22 * 0.02} = 4.3643 \text{ U/mL}$	$\frac{4.3643 \text{ U/mL}}{128.16 \text{ mg/mL}} = 0.0340 \text{ U/mg}$	$0.0340 \text{ U/mg} * 1000$	34.05
M41	$\frac{ 0.6657 - 0.465 * 0.5 * 13}{6.22 * 0.02} = 10.4867 \text{ U/mL}$	$\frac{10.4867 \text{ U/mL}}{170.28 \text{ mg/mL}} = 0.0615 \text{ U/mg}$	$0.0615 \text{ U/mg} * 1000$	61.58
M61	$\frac{ 0.1348 - 0.01 * 0.5 * 8}{6.22 * 0.02} = 3.9627 \text{ U/mL}$	$\frac{3.9627 \text{ U/mL}}{103.35 \text{ mg/mL}} = 0.0383 \text{ U/mg}$	$0.0383 \text{ U/mg} * 1000$	38.34
M66	$\frac{ 0.2289 - 0.0115 * 0.5 * 6}{6.22 * 0.02} = 5.2427 \text{ U/mL}$	$\frac{5.2427 \text{ U/mL}}{78.82 \text{ mg/mL}} = 0.0665 \text{ U/mg}$	$0.0665 \text{ U/mg} * 1000$	66.51
H32	$\frac{ 0.9091 - 0.721 * 0.5 * 16}{6.22 * 0.02} = 12.0964 \text{ U/mL}$	$\frac{12.0964 \text{ U/mL}}{209.00 \text{ mg/mL}} = 0.0578 \text{ U/mg}$	$0.0578 \text{ U/mg} * 1000$	57.87
H34	$\frac{ 0.0902 - 0.0044 * 0.5 * 12}{6.22 * 0.02} = 4.1382 \text{ U/mL}$	$\frac{4.1382 \text{ U/mL}}{156.72 \text{ mg/mL}} = 0.0264 \text{ U/mg}$	$0.0264 \text{ U/mg} * 1000$	26.40
H52	$\frac{ 0.57 - 0.46 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 4.0675 \text{ U/mL}$	$\frac{4.0675 \text{ U/mL}}{119.79 \text{ mg/mL}} = 0.0339 \text{ U/mg}$	$0.0339 \text{ U/mg} * 1000$	33.95
H68	$\frac{ 0.7138 - 0.6267 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 3.1857 \text{ U/mL}$	$\frac{3.1857 \text{ U/mL}}{118.35 \text{ mg/mL}} = 0.0269 \text{ U/mg}$	$0.0269 \text{ U/mg} * 1000$	26.92
H55	$\frac{ 0.9954 - 0.85 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 3.1857 \text{ U/mL}$	$\frac{3.1857 \text{ U/mL}}{120.37 \text{ mg/mL}} = 0.0446 \text{ U/mg}$	$0.0446 \text{ U/mg} * 1000$	44.66

Nota: Código M es rata macho y código H es rata hembra

Tabla A.15. Valores de cada parámetro evaluado para cada rata del grupo aspartame:acesulfame

Código	Masa corporal (g)	Hígado (g)	Hígado/masa corporal (%)	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M7	461.90	12.49	2.70	2.76
M11	473.50	12.68	2.68	5.44
M14	519.80	15.29	2.94	4.44
M49	470.50	12.63	2.68	4.62
M63	447.70	12.16	2.72	9.39
H1	270.90	7.77	2.87	25.12
H10	250.50	7.79	3.11	22.18
H25	230.80	7.20	3.12	16.77
H50	219.20	6.21	2.83	17.53
H64	231.80	6.57	2.83	6.34

Tabla A.16. Cálculos FAS para cada rata del grupo aspartame:acesulfame

Código	U/mL	U/mg	mU/mg	Actividad enzimática de la FAS (mU/mg)
M7	$\frac{ 0.8238 - 0.8148 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 0.3364 \text{ U/mL}$	$\frac{0.3364 \text{ U/mL}}{121.52 \text{ mg/mL}} = 0.0027 \text{ U/mg}$	$0.0027 \text{ U/mg} * 1000$	2.76
M11	$\frac{ 0.3506 - 0.3329 * 0.5 * 12}{6.22 * 0.02} = 0.8679 \text{ U/mL}$	$\frac{0.8679 \text{ U/mL}}{159.32 \text{ mg/mL}} = 0.0054 \text{ U/mg}$	$0.0054 \text{ U/mg} * 1000$	5.44
M14	$\frac{ 0.2707 - 0.2562 * 0.5 * 9}{6.22 * 0.02} = 0.5303 \text{ U/mL}$	$\frac{0.5303 \text{ U/mL}}{118.64 \text{ mg/mL}} = 0.0044 \text{ U/mg}$	$0.0044 \text{ U/mg} * 1000$	4.44
M49	$\frac{ 0.9224 - 0.9074 * 0.5 * 12}{6.22 * 0.02} = 0.7174 \text{ U/mL}$	$\frac{0.7174 \text{ U/mL}}{155.28 \text{ mg/mL}} = 0.0046 \text{ U/mg}$	$0.0046 \text{ U/mg} * 1000$	4.62
M63	$\frac{ 0.6725 - 0.642 * 0.5 * 13}{6.22 * 0.02} = 1.6181 \text{ U/mL}$	$\frac{1.6181 \text{ U/mL}}{172.30 \text{ mg/mL}} = 0.0093 \text{ U/mg}$	$0.0093 \text{ U/mg} * 1000$	9.39
H1	$\frac{ 0.3869 - 0.3056 * 0.5 * 10}{6.22 * 0.02} = 3.1696 \text{ U/mL}$	$\frac{3.1696 \text{ U/mL}}{126.14 \text{ mg/mL}} = 0.0251 \text{ U/mg}$	$0.0251 \text{ U/mg} * 1000$	25.12
H10	$\frac{ 0.5258 - 0.4539 * 0.5 * 12}{6.22 * 0.02} = 3.3811 \text{ U/mL}$	$\frac{3.3811 \text{ U/mL}}{152.4 \text{ mg/mL}} = 0.0221 \text{ U/mg}$	$0.0221 \text{ U/mg} * 1000$	22.18
H25	$\frac{ 0.5471 - 0.4927 * 0.5 * 7}{6.22 * 0.02} = 1.6180 \text{ U/mL}$	$\frac{1.6180 \text{ U/mL}}{96.43 \text{ mg/mL}} = 0.0167 \text{ U/mg}$	$0.0167 \text{ U/mg} * 1000$	16.77
H50	$\frac{ 1.0975 - 1.0405 * 0.5 * 8}{6.22 * 0.02} = 1.7869 \text{ U/mL}$	$\frac{1.7869 \text{ U/mL}}{101.91 \text{ mg/mL}} = 0.0175 \text{ U/mg}$	$0.0175 \text{ U/mg} * 1000$	17.53
H64	$\frac{ 0.307 - 0.2864 * 0.5 * 6}{6.22 * 0.02} = 0.4802 \text{ U/mL}$	$\frac{0.4802 \text{ U/mL}}{75.65 \text{ mg/mL}} = 0.0063 \text{ U/mg}$	$0.0063 \text{ U/mg} * 1000$	6.34

Nota: Código M es rata macho y código H es rata hembra

ANEXO B. Análisis estadísticos

B.1. Análisis estadísticos de la masa corporal a los 170 días de la ingesta de edulcorantes

Tabla B.1.1. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa corporal a los 170 días de la ingesta de edulcorantes

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Efectos principales					
A:Grupo	8809.96	7	1258.57	1.48	0.1896
B:Sexo	1.04299E6	1	1.04299E6	1228.32	0.0000
Interacciones					
AB	7763.93	7	1109.13	1.31	0.2619
Residuos	54343.4	64	849.115		
Total (corregido)	1.11391E6	79			

Tabla B.1.2. Pruebas de rangos múltiples para la masa corporal por sexo

<i>Sexo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Hembra	40	246.205	4.60737	X
Macho	40	474.568	4.60737	X

Tabla B.1.3. Medias por mínimos cuadrados para masa corporal con intervalos de confianza del 95.0%

<i>Grupo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error estándar</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Límite inferior</i>	<i>Límite superior</i>
Acesulfame	10	345.7	9.21474	118.927	327.291	364.109
Aspartame:Acesulfame	10	357.66	9.21474	125.402	339.251	376.069
Control	10	356.95	9.21474	117.797	338.541	375.359
Fructosa	10	380.75	9.21474	144.362	362.341	399.159
Glucosa	10	359.03	9.21474	112.365	340.621	377.439
Sacarina	10	371.8	9.21474	133.031	353.391	390.209
Sacarosa	10	360.77	9.21474	123.674	342.361	379.179
Sucralosa	10	350.43	9.21474	112.182	332.021	368.839

Tabla B.1.4. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa corporal de las ratas hembra tras 170 días de ingesta de edulcorantes

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1130.97	7	161.568	0.32	0.9378
Intra grupos	15998.4	32	499.949		
Total (Corr.)	17129.3	39			

Tabla B.1.5. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa corporal de las ratas macho tras 170 días de ingesta de edulcorantes

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	15442.9	7	2206.13	1.84	0.1133
Intra grupos	38345.0	32	1198.28		
Total (Corr.)	53787.9	39			

B.2. Análisis estadísticos de la masa de hígados a los 170 días de la ingesta de edulcorantes

Tabla B.2.1. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa del hígado a los 170 días de la ingesta de edulcorantes

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Efectos principales					
A:Sexo	595.422	1	595.422	466.96	0.0000
B:Grupo	42.3164	7	6.0452	4.74	0.0003
Interacciones					
AB	10.2362	7	1.46231	1.15	0.3461
Residuos	80.3316	63	1.2751		
Total (corregido)	732.281	78			

Tabla B.2.2. Pruebas de rangos múltiples para la masa de los hígados por edulcorante

<i>Grupo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Sucralosa	10	9.204	0.357086	X
Control	10	9.694	0.357086	X
Acesulfame	10	9.708	0.357086	X
Aspartame:Acesulfame	9	9.799	0.378747	X
Glucosa	10	9.978	0.357086	XX
Sacarina	10	10.352	0.357086	XX
Sacarosa	10	10.99	0.357086	XX
Fructosa	10	11.582	0.357086	X

Método de Duncan al 95% de confianza

Tabla B.2.3. Resumen estadístico para la masa de los hígados por edulcorante

<i>Grupo</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Coefficiente de variación</i>	<i>Mínimo</i>
Acesulfame	10	9.708	3.00379	30.9414%	6.31
Aspartame:Acesulfame	9	9.5	2.88403	30.3582%	6.21
Control	10	9.694	3.23938	33.4163%	5.87
Fructosa	10	11.582	3.21837	27.7877%	7.68
Glucosa	10	9.978	2.81637	28.2258%	6.5
Sacarina	10	10.352	3.47756	33.5931%	5.21
Sacarosa	10	10.99	3.64205	33.1397%	6.11
Sucralosa	10	9.204	2.40908	26.1742%	5.87

Tabla B.2.4. Resumen estadístico para masa de hígado de ratas hembra por grupo de edulcorante

<i>Grupo</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Coefficiente de variación</i>	<i>Mínimo</i>
Acesulfame	5	7.014	0.588923	8.39639%	6.31
Aspartame:Acesulfame	5	7.108	0.708463	9.96712%	6.21
Control	5	6.92	1.02798	14.8553%	5.87
Fructosa	5	8.64	0.828221	9.58589%	7.68
Glucosa	5	7.436	0.676631	9.0994%	6.5
Sacarina	5	7.204	1.15071	15.9732%	5.21
Sacarosa	5	7.782	1.19418	15.3454%	6.11
Sucralosa	5	7.208	0.990767	13.7454%	5.87

Tabla B.2.5. Análisis de varianza, ANDEVA, para masa de hígados de ratas hembra por grupo de edulcorante

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	11.116	7	1.58799	1.87	0.1071
Intra grupos	27.1244	32	0.847638		
Total (Corr.)	38.2404	39			

Tabla B.2.6. Análisis de varianza, ANDEVA, para masa de hígados de ratas macho por grupo de edulcorante

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	41.4067	7	5.91525	3.45	0.0076
Intra grupos	53.2072	31	1.71636		
Total (Corr.)	94.6139	38			

Tabla B.2.7. Resumen estadístico para masa de hígado de ratas macho por grupo de edulcorante

<i>Edulcorante</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Coefficiente de variación</i>	<i>Mínimo</i>
Acesulfame	5	14.524	0.990419	6.81919%	13.51
Aspartame:Acesulfame	4	12.49	0.234236	1.87539%	12.16
Control	5	12.468	1.82101	14.6055%	9.99
Fructosa	5	13.5	1.05416	7.80858%	12.34
Glucosa	5	11.2	1.45484	12.9896%	9.64
Sacarina	5	12.52	1.11113	8.8748%	11.33
Sacarosa	5	12.402	1.34548	10.8489%	11.12
Sucralosa	5	14.198	1.6404	11.5538%	12.54

Tabla B.2.8. Pruebas de rangos múltiples para masa de hígado de ratas macho por grupo de edulcorante

<i>Edulcorante</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Glucosa	5	11.2	X
Sacarosa	5	12.402	XX
Control	5	12.468	XX
Aspartame:Acesulfame	4	12.49	XX
Sacarina	5	12.52	XX
Fructosa	5	13.5	XX
Sucralosa	5	14.198	XX
Acesulfame	5	14.524	X

Método de Duncan al 95% de confianza

B.3. Análisis estadísticos de la proporción entre las masas de los hígados con su masa corporal

Tabla B.3.1. Análisis de varianza, ANDEVA, de la masa de los hígados en proporción con su masa corporal a los 170 días de la ingesta de edulcorantes

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Efectos principales					
A:S	0.000153931	1	0.000153931	30.98	0.0000
B:Endulzante	0.000237567	7	0.0000339382	6.83	0.0000
Interacciones					
AB	0.0000749193	7	0.0000107028	2.15	0.0510
Residuos	0.000303044	61	0.00000496794		
Total (corregido)	0.000742876	76			

Tabla B.3.2. Pruebas de rangos múltiples para la masa de hígado en proporción con la masa corporal por edulcorante

<i>Endulzante</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Sucralosa	9	2.63104	0.0747592	×
Control	10	2.72804	0.0704836	×
Glucosa	10	2.80818	0.0704836	×
Sacarina	10	2.81245	0.0704836	×
Aspartame:Acesulfame	9	2.8243	0.0747592	×
Acesulfame	10	2.85334	0.0704836	×
Sacarosa	10	3.06662	0.0704836	×
Fructosa	9	3.23549	0.0747592	×

Método de Duncan al 95% de confianza

Tabla B.3.3. Resumen estadístico para la masa de hígado en proporción con la masa corporal por grupo de edulcorante

<i>Endulzante</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Coficiente de variación</i>
Acesulfame	10	2.85334	0.254962	8.93557%
Aspartame:Acesulfame	9	2.8243	0.171801	6.05232%
Control	10	2.72804	0.293376	10.7541%
Fructosa	9	3.23549	0.474009	14.8542%
Glucosa	10	2.80818	0.169028	6.01912%
Sacarina	10	2.81245	0.230013	8.1784%
Sacarosa	10	3.06662	0.231011	7.53308%
Sucralosa	9	2.63104	0.282608	10.8091%

Tabla B.3.4. Análisis de varianza, ANDEVA, para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas hembra por grupo de edulcorante

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.000222566	7	0.0000317951	6.60	0.0001
Intra grupos	0.000144417	30	0.0000048139		
Total (corregido)	0.000366983	37			

Tabla B.3.5. Resumen estadístico para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas hembra por grupo de edulcorante

<i>Edulcorante</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Coefficiente de variación</i>
Acesulfame	5	2.98619	0.0256235	8.58067%
Aspartame:Acesulfame	5	2.95299	0.0148317	5.0226%
Control	5	2.79008	0.0355469	12.7405%
Fructosa	4	3.63517	0.0136506	3.75516%
Glucosa	5	2.91354	0.0131933	4.52827%
Sacarina	5	2.89859	0.026206	9.04093%
Sacarosa	5	3.13883	0.0172047	5.48124%
Sucralosa	4	2.7795	0.0152198	5.47573%

Tabla B.3.6. Pruebas de rangos múltiples para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas hembra por grupo de edulcorante

<i>Edulcorante</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Sucralosa	4	2.7795	X
Control	5	2.79008	X
Sacarina	5	2.89859	XX
Glucosa	5	2.91354	XX
Aspartame:Acesulfame	5	2.95299	XX
Acesulfame	5	2.98619	XX
Sacarosa	5	3.13883	X
Fructosa	4	3.63517	X

Método: 95.0 porcentaje Duncan

Tabla B.3.7. Análisis de varianza, ANDEVA, para la masa de hígado en proporción con la masa corporal de ratas macho por grupo de edulcorante

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.0000740991	7	0.0000105856	2.07	0.0774
Intra grupos	0.000158627	31	0.00000511701		
Total (corregido)	0.000232726	38			

B.4. Análisis estadísticos de la enzima ácido graso sintasa (FAS) en el extracto crudo del tejido hepático

Tabla B.4.1. Resumen estadístico para la actividad específica [mU/mg] de FAS en ratas hembra

Grupo	Recuento	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Mínimo	Máximo
Acesulfame	5	15.5988	7.8	114.331%	2.4577	47.9205
Control	5	11.1764	3.9	124.562%	6.3054	26.1196
Fructosa	5	57.3069	20.4	87.9934%	30.6880	102.75
Glucosa	5	80.5071	24.9	80.6612%	31.2176	157.853
Aspartame:Acesulfame	5	17.0615	6.0	70.3819%	6.3478	25.1274
Sacarina	5	24.9703	10.8	83.2204%	17.0236	33.8325
Sacarosa	5	38.0599	12.1	33.9284%	26.4042	57.8756
Sucralosa	5	29.1022	10.8	35.8348%	16.1985	44.5734

Tabla B.4.2. Análisis de varianza, ANDEVA, para los niveles de actividad específica [mU/mg] de FAS de las ratas hembra

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	19870.8	7	2838.69	2.80	0.0218
Intra grupos	32492.6	32	1015.39		
Total (corregido)	52363.4	39			

Tabla B.4.3. Pruebas de rangos múltiples para la actividad específica (mU/mg) de la sintasa de ácidos grasos (FAS) para las ratas hembra a los 160 días

Grupo	Casos	Media	Grupos homogéneos
Control	5	11.1764	X
Acesulfame	5	15.5988	X
Aspartame:Acesulfame	5	17.0615	XX
Sacarina	5	24.9703	XX
Sucralosa	5	29.1022	XX
Sacarosa	5	38.0599	XX
Fructosa	5	57.3069	XX
Glucosa	5	80.5071	X

Método de Duncan al 95% de confianza

Tabla B.4.4. Resumen estadístico para la actividad específica [mU/mg] de FAS en ratas macho

Grupo	Recuento	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Mínimo	Máximo
Acesulfame	5	9.55313	6.6	63.4563%	2.9903	18.9112
Control	5	7.41393	4.5	60.5313%	2.8088	14.1737
Fructosa	5	22.4027	8.8	82.534%	8.8741	43.3630
Glucosa	5	46.5863	21.1	110.601%	10.8704	136.30
Aspartame:Acesulfame	5	5.329	3.2	59.7061%	2.7682	9.3911
Sacarina	5	54.3804	22.1	77.4942%	21.0889	124.03
Sacarosa	5	67.3037	27.3	70.241%	34.0528	138.778
Sucralosa	5	30.5204	18.8	79.5594%	14.6320	46.1665

Tabla B.4.5. Análisis de varianza, ANDEVA, para los niveles de actividad específica [mU/mg] de FAS de las ratas macho

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	19272.0	7	2753.15	2.87	0.0191
Intra grupos	30656.5	32	958.016		
Total (corregido)	49928.5	39			

Tabla B.4.6. Pruebas de rangos múltiples para la actividad específica (mU/mg) de la sintasa de ácidos grasos (FAS) para las ratas macho a los 160 días

<i>Grupo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
Aspartame:Acesulfame	5	5.329	X
Control	5	7.41393	X
Acesulfame	5	9.55313	X
Fructosa	5	22.4027	XX
Sucralosa	5	30.5204	XXX
Glucosa	5	46.5863	XXX
Sacarina	5	54.3804	XX
Sacarosa	5	67.3037	X

Método de Duncan al 95% de confianza

ANEXO C. Disposición de residuos producidos en esta investigación

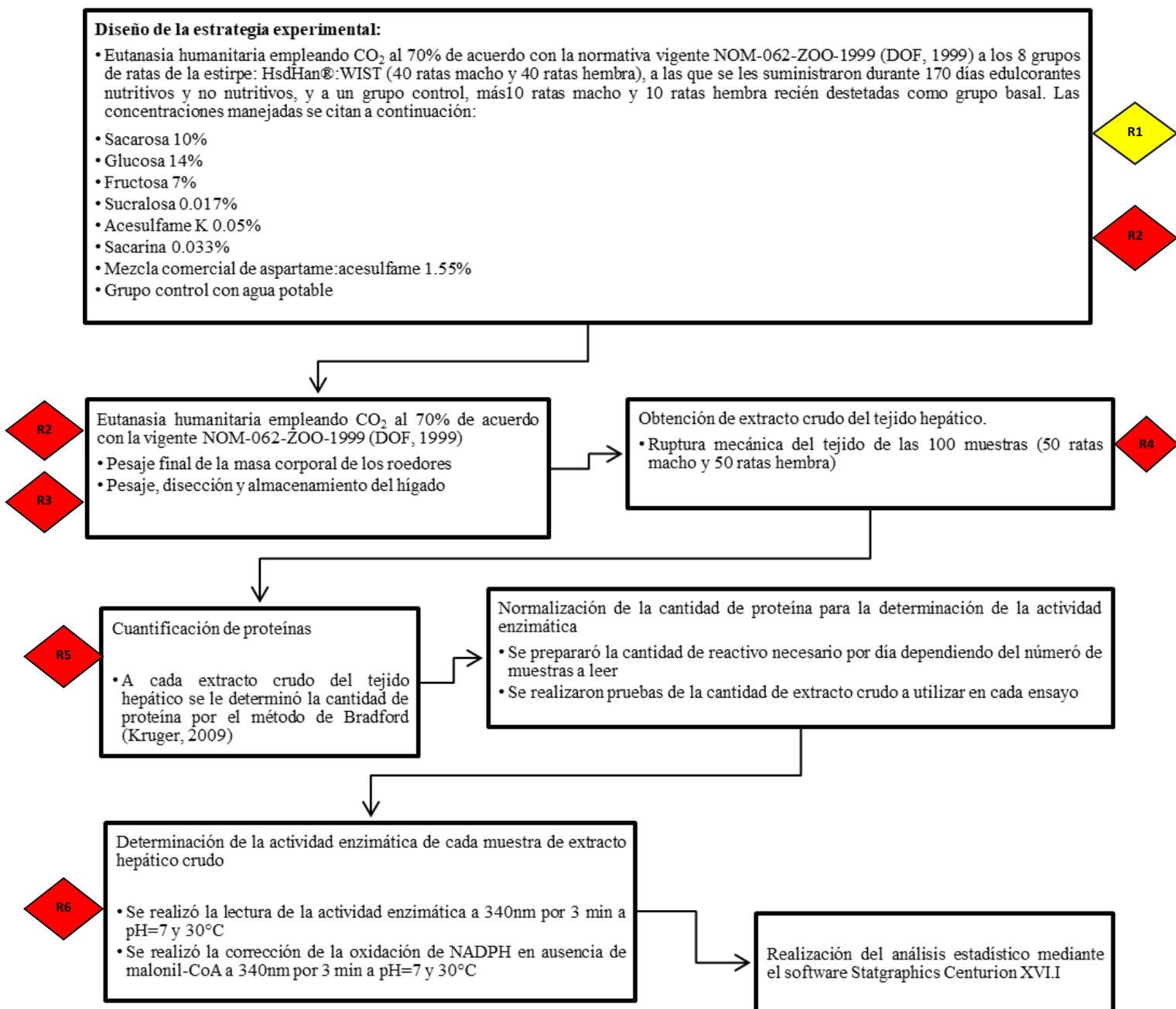


Figura C.1. Diagrama esquemático de la disposición controlada de residuos producidos en esta investigación

R1: Partes de tejido y restos anatómicos. Se almacenan en bolsas amarillas para residuos biológico-infecciosos y se almacenan temporalmente a -20°C en la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA). Son recolectados por una compañía de disposición de residuos biológicos infecciosos, a través de la Facultad de Química de la UNAM, para su incineración.

R2: Torundas con sangre de los roedores. Se almacenan en bolsas rojas de residuos biológico-infecciosos y son colocados en los contenedores adecuados en la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA). Se almacena temporalmente hasta que una compañía recolectora, a través de la Facultad de Química de la UNAM, los lleva a incineración.

R3: Navajas para disección de hígado. Se depositan en un recipiente especial para objetos punzocortantes con residuos biológicos en la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA). Se almacena temporalmente hasta que una compañía recolectora, a través de la Facultad de Química de la UNAM, los lleva a su disposición final.

R4: Solución amortiguadora de lisis *RIPA*[®]: NaCl 137 mM, KCl 2 mM, K_2HPO_4 8.1 mM, KH_2PO_4 1.5 mM, octilfenoxi poli (etilenoxi) etanol 0.1%, deoxicolato de sodio 0.5%, dodecilsulfato de sodio 0.1%, NaF 1 mM, Na_3VO_4 2 mM, azida de sodio 0.006%; reactivo de Bradford: H_3PO_4 10%, etanol 5%, azul de Coomassie G 0.01%. Se etiqueta con todos los datos requeridos y se entrega al personal del Laboratorio 301 del Conjunto E para ser entregado en las recolectas periódicas de los residuos para su gestión por parte de la Unidad de Gestión Ambiental (UGA) de la Facultad de Química de la UNAM.

R5: Reactivo de Bradford [azul de Coomassie 100 mg/L, ácido fosfórico 8.5% (v/v), etanol 5% (v/v)]. Se etiqueta con todos los datos requeridos y se entrega al personal del Laboratorio 301 del Conjunto E para ser entregado en las recolectas periódicas de los residuos para su gestión por parte de la Unidad de Gestión Ambiental (UGA) de la Facultad de Química de la UNAM.

R6: Mezcla de reacción para la determinación de la sintasa de ácidos grasos: 210 mM de KH_2PO_4 , 290 mM de K_2HPO_4 , 33 μM de acetil-Coenzima A, 100 μM de malonil-CoA, 100 μM de NADPH, 1 mM de EDTA, 1 mM de β -mercaptoetanol. Se etiqueta con todos los datos requeridos y se entrega al personal del Laboratorio 301 del Conjunto E para ser entregado en las recolectas periódicas de los residuos para su gestión por parte de la Unidad de Gestión Ambiental (UGA) de la Facultad de Química de la UNAM.

BIBLIOGRAFÍA

Aldrete-Velasco, J., López-García, R., Zúñiga-Guajardo, S., Riobó-Serván, P., Serra-Majem, L., Suverza-Fernández, A., Esquivel-Flores, M.G., Molina-Segui, F., Pedroza-Islas, R., Rascón-Hernández, M., Díaz-Madero, S., Tommasi-Pedraza, J., Laviada-Molina, H. 2017. Análisis de la evidencia disponible para el consumo de edulcorantes no nutritivos. *Medicina Interna de México*. 33(1): 61-83.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-48662017000100061&lng=es&tlng=es.

Anderson, G.H., Foreyt, J., Sigman-Grant, M., Allison, D.B. 2012. The use of low-calorie sweeteners by adults: Impact on ‘weight’¹ management. *The Journal of Nutrition*. 142(6): 1163S–1169S. <https://doi.org/10.3945/jn.111.149617>

Andrejić, B.M., Mijatović, V.M., Samojlik, I.N., Horvat, O.J., Čalasan, J.D., Đolai, M.A. 2013. The influence of chronic intake of saccharin on rat hepatic and pancreatic function and morphology: Gender differences. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. 13(2): 94-99. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2013.2372>.

Andreyeva, T., Chaloupka, F.J., Brownell, K.D. 2011. Estimating the potential of taxes on sugar-sweetened beverages to reduce consumption and generate revenue. *Preventive Medicine*. 52(6): 413-416. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2011.03>.

Barquera, S., Campos-Nonato, I., Hernández-Barrera, L., Pedroza-Tobías, A., Rivera-Dommarco, J.A. 2012. Prevalencia de la obesidad en adultos mexicanos, ENSANUT Salud Pública Mex. 55(2):151-60.

Barrera-Cruz, A., Rodríguez-González, A., Molina-Ayala, M. 2013. Escenario actual de la obesidad en México. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 51(3): 292-299.

Bazin, R., Ferré, P. 2001. In *Assays of lipogenic enzymes. Adipose Tissue Protocols. Methods in Molecular Biology™*. Ailhaud, G. (ed.). Vol. 155. Totowa, Springer, <https://doi.org/10.1385/1-59259-231-7:121>

¹ Weight es la traducción al inglés de peso, una unidad de fuerza (N). Los autores debieron haber dicho “mass” (kg) [Nota de la asesora]

- Bernal-Reyes, R. 2012. Hígado graso, esteatohepatitis alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica. *Revista de Gastroenterología de México*. 77(1): 84-86.
- Bray, G.A., Nielsen, S.J., Popkin, B.M. 2004. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79(4): 537-543. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.4.537>.
- Bulman, J.F., Navarro-Arroyo, J., Díaz-Greene, E., Guzmán-Valdivia, G., Rodríguez-Weber, F. 2018. Ingesta de edulcorantes no nutritivos en tres poblaciones distintas de adultos en México. *Revista Chilena de Nutrición*. 45(1): 45-49.
- Busto-Bea, V., Herrero-Quirós, C. 2015. Información al paciente. Pruebas de función hepática: B, AST, ALT, FA y GGT. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 107(10): 648. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082015001000017&lng=es&tlng=es.
- Caravalí-Meza, N.Y., Jiménez-Cruz, A., Bacardí-Gascón, M. 2016. Estudio prospectivo sobre el efecto del consumo de bebidas azucaradas sobre la obesidad en un periodo de 12 meses en mexicanos de 15 a 19 años. *Nutrición Hospitalaria*. 33(2): 270–276.
- Castro-Martínez, M.G., Banderas-Lares, D.Z., Ramírez-Martínez, J.C., Escobedo-de-la-Peña, J. 2012. Prevalencia de hígado graso no alcohólico en individuos con síndrome metabólico. *Cirugía y Cirujanos*. 80(2): 128-133.
- Cecchini, M., Sassi, F., Lauer J., Lee, Y., Guajardo-Barron, V., Chisholm, D. 2010. Tackling of unhealthy diets, physical inactivity, and obesity: Health effects and cost-effectiveness. *Lancet*. 376: 1775-1784.
- Córdova, J. 2002. La química y la cocina. SEP, FCE, CONACYT, La ciencia para todos. 93: 145-149. Ciudad de México, México.
- Davidson, T.L., Martin, A.A., Clark, K., Swithers, S.E. 2011. Intake of high-intensity sweeteners alters the ability of sweet taste to signal caloric consequences: Implications for the learned control of energy and body ‘weight’² regulation. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*. 64(7): 1430–1441. <https://doi.org/10.1080/17470218.2011.552729>
- DOF. 1999. NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción cuidado y uso de animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México, México.

² Como ya se mencionó, weight es la traducción al inglés de peso, una unidad de fuerza (N). Los autores debieron haber dicho “mass” (kg) [Nota de la asesora]

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 Sistema general de unidades de medida. CUATRO.- 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. Ciudad de México, México.

Donnelly, L., Smith, I., Schwarzenberg, J., Jessurun, J., Boldt, D., Parks, E. J. 2005. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *The Journal of Clinical Investigation*. 115(5): 1343–1351.

<https://doi.org/10.1172/JCI23621>

DuBois, G.E., Prakash, I. 2012. Non-caloric sweeteners, sweetness modulators, and sweetener enhancers. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3: 353–380.

<https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101236>

Duffy, V.B., Peterson, J.M., Dinehart, M.E., Bartoshuk, L.M. 2003. Genetic and environmental variation in taste. *Topics in Clinical Nutrition*. 18(4): 209–220.

Durán, S., Córdón, K., Rodríguez M. 2013. Edulcorantes no nutritivos, riesgos, apetito y ganancia de ‘peso’³. *Revista Chilena de Nutrición*. 40(3): 309-314.

<https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182013000300014>

Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2020. Alimentos chatarra y las bebidas endulzadas en los tiempos del Covid-19 / *Junk Foods and Sweetened Drinks in the Times of Covid-19*. **RD-ICUAP**. 6(18):1-16. ISSN: 2448-5829 (Online).

<http://rd.buap.mx/ojs-dm/index.php/rdicuap/article/view/240>

Cita: <https://www.facebook.com/TVBUAP/videos/238652878235654> (Ciencia a tiempo: Ep. 5 (facebook.com))

Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2017. Aditivos: Negocios a la Moda. Parte IV. **RD-ICUAP**. 3(2)1-31 (2017) ISSN: 2448-5829 (Online).

³ Peso y masa no son sinónimos. El peso es una magnitud vectorial, la fuerza que ocasiona la caída de los cuerpos y se mide en N. La masa es una magnitud escalar, la cantidad de materia que tiene un cuerpo y se mide en kg (<http://cienciasprimeroeso.blogspot.mx/2015/04/masa-versus-peso.html>)

<https://icuap.buap.mx/sites/default/files/revista/2017/02/aditivos.pdf>

- ENVIGO. 2018. HsdHan®:WIST Production Facility 610 Jerusalem, IL [En línea]. Disponible en: <https://www.envigo.com/assets/docs/growth-curves/israel/hsdhanwist.pdf>
- Fullerton, M.D., Galic, S., Marcinko, K., Sikkema, S., Pulinilkunnil, T., Chen, Z.P., Hardie, D.G. 2013. Single phosphorylation sites in Acc1 and Acc2 regulate lipid homeostasis and the insulin-sensitizing effects of metformin. *Nature Medicine*. 19(12): 1649-1654. doi:10.1038/nm.3372.
- García-Almeida, J.M., Casado, F., Gracia, M., García-Alemán, J. 2013. Una visión global y actual de los edulcorantes: Aspectos de regulación. *Nutrición Hospitalaria*. 28(Supl. 4): 17-31. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013001000003&lng=es&tlng=es.
- Gómez-Vázquez, H.M. 2017. La paradoja de los endulzantes sin calorías. *Medicina Interna de México*. 33(2): 204-208.
- Gómez, C., Palma, S. 2013. Una visión global, actualizada y crítica del papel del azúcar en nuestra alimentación. *Nutrición Hospitalaria*. 28: 1-4.
- Goldsmith, L.A., Merkel, C.M. 2011. Sucralose. En *Alternative Sweeteners*. O'Brien Nabors, L., ed. Editorial Marcel Dekker, 3a edición, pp. 185-209. Nueva York, EE. UU.
- Graffigna, M., Catoira, N., Soutelo, J., Azpelicueta, A., Berg, G., Perel, C., Migliano, M.E., Aranguren, M., Mussoy, C., Farías, J. 2017. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*. 54(1): 37-46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.raem.2016.12.001>
- Hui, Y.S., Bin, W.L., Fong, C.F. 2014. Metabolism of hexoses. En *Dietary Sugars and Health*. Goran, M.I., Tappy, L., Lê, K., eds. CRC Press, pp. 157-168. Boca Raton, EE. UU.
- Jensen-Urstad, A.P.L., Semenkovich, C.F. 2012. Fatty acid synthase and liver triglyceride metabolism: Housekeeper or messenger? *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 1821(5): 747-753. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.09.017>.
- Jing, M.A., Bellon, M., Wishart, J., Young, R., Blackshaw, A., Jones, K., Horowitz, M., Rayner, C. 2009. Effect of the artificial sweetener, sucralose, on gastric emptying and incretin hormone release in healthy subjects. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 296: 735-739.

- Keim, N.L., Havel, P.J. 2013. Fructose: Absorption and metabolism. En *Encyclopedia of Human Nutrition*. Caballero, B., ed. Academic Press, 3a ed., Vol. 2, pp. 361-365. Nueva York, EE. UU. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00128-8>.
- Kersten S. 2001. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis. *EMBO Reports*. 2(4): 282-286. <https://doi.org/10.1093/embo-reports/kve071>
- Koteish, A., Diehl, A.M. 2001. Animal models of steatosis. In *Seminars in liver disease*. Thieme Medical Publishers. 21(1):89-104. Nueva York, EE.UU. DOI: 10.1055/s-2001-12932.
- Kruger, N.J. 2009. The Bradford method for protein quantitation. In: *The Protein Protocols Handbook*. Walker, J.M., ed. Human Press, 3a edición, pp. 17-25. Totowa, EE. UU.
- Kumamoto, R., Uto, H., Oda, K., Ibusuki, R., Tanoue, S., Arima, S., Moriuchi, A. 2013. Dietary fructose enhances the incidence of precancerous hepatocytes induced by administration of diethylnitrosamine in rat. *European Journal of Medical Research*. 18(1): 54 (8 páginas) <http://www.eurjmedres.com/content/18/1/54>.
- Lawrence, J.F. 2003. Acesulfame | Acesulphame. En *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Caballero, B., ed. Academic Press, 2a ed., Vol. 1, pp. 1-3. Nueva York, EE. UU. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00002-X>
- Lipinski, G., Hanger, L. 2011. Acesulfame K. En *Alternative Sweeteners*. O'Brien-Nabors, L., ed. Marcel Dekker, 3a ed., pp. 13-31. Nueva York, EE. UU.
- López-Oliva, M.E., Muñoz-Martínez, E. 2014. SREBP-1c, ChREBP y LXR: Su influencia en el desarrollo del hígado graso no alcohólico. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. 80(1): 14-48.
- Loza-Medrano, S., Baiza-Gutman, L., Ibáñez-Hernández, M., Cruz-López, M., Díaz-Flores, M. 2019. Alteraciones moleculares inducidas por fructosa y su impacto en las enfermedades metabólicas. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 56(5): 491-504. http://revistamedica.imss.gob.mx/editorial/index.php/revista_medica/article/view/2369/3155
- Manzur-Jattin, F., Morales-Núñez, M., Ordosgoitia-Morales, J., Quiroz-Mendoza, R., Ramos-Villegas, Y., Corrales-Santander, H. 2020. Impacto del uso de edulcorantes no nutritivos en la salud cardiometabólica. *Revista Colombiana de Cardiología*. 27(2): 103-108. <https://doi.org/10.1016/j.rccar.2019.11.003>.
- Martínez, O.L., Román, M.O. 2002. Teoría sensorial y molecular del sabor dulce. *Vitae*. 9(1):15-26. ISSN: 0121-4004. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1698/169818118002>

- Martínez, C., González, E., García, R.S., Salas, G., Constantino-Casas, F., Macías, L., 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(1): 116-124.
- Martínez-Tinajero, C.M., González-Filomeno, E., García-Gómez, R.S., Salas-Garrido, G., Gracia-Mora, I., Tovar-Palacio, C., Durán-de-Bazúa, C. 2008. Efecto de la ingesta de endulzantes hipocalóricos con el agua de beber en ratas de laboratorio, comparada con dos controles (agua con y sin azúcar). *ATAM*. 17(2):15-23.
- 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. Facultad de Química, UNAM, Ciudad de México, México.
- Mendoza-Pérez, S. 2021. Efecto de los edulcorantes nutritivos y no nutritivos sobre la actividad de las enzimas reguladoras de la glucólisis y la lipogénesis. Tesis de Doctorado en Ciencias. Facultad de Química, UNAM, Ciudad de México, México.
- Mendoza-Pérez, S., García-Gómez, R.S, Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2019. Uso humanitario de animales de laboratorio para experimentación de sustancias potencialmente tóxicas en el organismo humano / *Humanitarian use of laboratory model animals to study the effects of potentially toxic substances to the human organism*. *Ambiens Techné et Scientia México*. 7(2):157-196.
- Mendoza-Pérez, S., García-Gómez, R.S, Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.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*. Samuel Mendoza-Pérez, Rolando S. García-Gómez, María del Carmen Durán-Domínguez-de-Bazúa. *RD-ICUAP*. 3(1)1-15 (2017) ISSN: 2448-5829 (Online).
<http://www.icuap.buap.mx/sites/default/files/revista/2017/01/glucidos.pdf>
- Moore, B., Gunn, J., Fielding, A. 2014. The role of dietary sugars and *de novo* lipogenesis in non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrients*. 6(12): 5679–5703.
<https://doi.org/10.3390/nu6125679>

- Moreno-Martínez, M. García-Ruiz, A. Sánchez-González D.J. 2011. Efecto de los edulcorantes no nutritivos (aspartame y sucralosa) en el ‘peso’⁴ de las ratas. Estudio prospectivo, controlado, aleatorizado, doble ciego. *Revista de Sanidad Militar México*. 65(4):168-175.
- Nelson, D., Cox, M. 2009. Leningher. Principios de Bioquímica. Omega, 5ª ed., pp. 527-569; 805-851. Barcelona, España.
- Nepokroeff, C.M., Lakshmanan, M.R., Porter, J.W. 1975. Fatty acid synthase from rat liver. In *Methods in Enzymology*. Lowenstein, J.M. (ed.). 35:37-44. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(75\)35136-7](https://doi.org/10.1016/0076-6879(75)35136-7).
- Nuttall F. Q. 2015. Body Mass Index: Obesity, BMI, and Health: A Critical Review. *Nutrition Today*. 50(3): 117–128. <https://doi.org/10.1097/NT.0000000000000092>
- Olguín-B., M.C., Posadas-R., M.D., Revelant-Z., G.C., Labourdette, V., Marinozzi-T., D.O., Venezia-N., M.R., Zingale-V., M.I. 2015. Efectos del consumo elevado de fructosa y sacarosa sobre parámetros metabólicos en ratas obesas y diabéticas. *Revista Chilena de Nutrición*. 42(2): 151-156.
- OMS. 2000. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. En WHO. Technical Report Series, No. 894. World Health Organization. (Actualizado 2019) Geneva, Suiza.
https://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/
- OMS. 2021. Obesidad y ‘sobrepeso’⁵. (Actualizado 2021). <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- OMS/FAO. 2003. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas de 2003. Informe Técnico. OMS, Ginebra, Suiza. http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_916_spa.pdf
- PAHO. 2015. Taxes on sugar-sweetened beverages as a public health strategy: The experience of Mexico. Pan American Health Organization, México D.F., México.
<https://www.paho.org/en/documents/taxes-sugar-sweetened-beverages-public-health-strategy-experience-mexico>

⁴Peso y masa no son sinónimos. El peso es una magnitud vectorial, la fuerza que ocasiona la caída de los cuerpos y se mide en N. La masa es una magnitud escalar, la cantidad de materia que tiene un cuerpo y se mide en kg (<http://cienciasprimeroeso.blogspot.mx/2015/04/masa-versus-peso.html>)

- Pajuelo, R.J., Bernui, L.I., Castillo, S.A., Cabrera, B.S., Cuba, J.J. 2013. Comparación de la ingesta de energía y nutrientes en adolescentes mujeres con ‘sobrepeso’⁵ y obesidad. *Anales de la Facultad de Medicina*. 74(1): 15-20.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832013000100004&lng=es&tlng=es
- Plaza-Díaz, J., Martínez A.O., Gil, Á. 2013. Los alimentos como fuente de mono y disacáridos: Aspectos bioquímicos y metabólicos. *Nutrición Hospitalaria*. 28(Supl. 4): 5-16.
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013001000002&lng=es&tlng=pt.
- Poppitt, D., Keogh, F., Prentice, M., Williams, E., Sonnemans, M., Valk, E., Robinson, E., Wareham, J. 2002. Long-term effects of *ad libitum* low-fat, high-carbohydrate diets on body ‘weight’⁶ and serum lipids in ‘overweight’⁷ subjects with metabolic syndrome. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 75(1): 11–20. <https://doi.org/10.1093/ajcn/75.1.11>
- Prieto-Valiente, L., Herranz-Tejedor, I. 2010. *Bioestadística sin dificultades matemáticas, en busca de tesoros escondidos*. Ediciones Díaz de Santos. Madrid, España.
- Raben, A., Vasilaras, T.H., Moller, A.C., Astrup, A. 2002. Sucrose compared with artificial sweeteners: Different effects on *ad libitum* food intake and body ‘weight’⁶ after 10 wk of supplementation in ‘overweight’⁷ subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*. 76 (4): 721-729.
- Rivera-Dommarco, J.A., Colchero, M.A., Fuentes, M.L., González de Cosío-Martínez, T., Aguilar-Salinas, C.A., Hernández-Licona, G., Barquera, S. (eds.). 2018. *La obesidad en México. Estado de la política pública y recomendaciones para su prevención y control*. Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, Morelos, México.
- Roesch-Dietlen, F., Dorantes-Cuéllar, A., Carrillo-Toledo, M.G., Martínez-Sibaja, C., Rojas-Carrera, S., Bonilla-Rojas, S., León-Valdivieso, J.J. 2006. Frecuencia del hígado graso no

⁵ Peso y masa no son sinónimos. El peso es una magnitud vectorial, la fuerza que ocasiona la caída de los cuerpos y se mide en N. La masa es una magnitud escalar, la cantidad de materia que tiene un cuerpo y se mide en kg (<http://cienciasprimeroeso.blogspot.mx/2015/04/masa-versus-peso.html>)

⁶ Weight es la traducción al inglés de peso, una unidad de fuerza (N). Los autores debieron haber dicho “mass” (kg) [Nota de la asesora]

⁷ Weight es la traducción al inglés de peso, una unidad de fuerza (N). Los autores debieron haber llamado a esta condición médica “excess mass” (exceso de masa corporal) (kg) [Nota de la asesora]

- alcohólico en un grupo de pacientes con síndrome metabólico estudiado en la Ciudad de Veracruz. *Revista de Gastroenterología de México*. 71(4): 446-452.
- Rumessen J. J. 1992. Fructose and related food carbohydrates. Sources, intake, absorption, and clinical implications. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 27(10): 819–828.
<https://doi.org/10.3109/00365529209000148>
- Sánchez, M. 2013. La obesidad. Dirección General de Divulgación de la Ciencia: Universidad Nacional Autónoma de México. Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial. Primera edición. Colección ¿Cómo ves? pp. 17-21. Ciudad de México, México.
- Schiffman, S.S., Rother, K.I. 2013. Sucralose, a synthetic organochlorine sweetener: Overview of biological issues. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B Critical Reviews*. 16(7):399-451. doi: 10.1080/10937404.2013.842523.
- Schultz, A., Barbosa-da-Silva, S., Aguila, M.B., Mandarim-de-Lacerda, C.A. 2015. Differences and similarities in hepatic lipogenesis, gluconeogenesis and oxidative imbalance in mice fed diets rich in fructose or sucrose. *Food & Function*. 6(5): 1684-1691.
- Serra-Majem, L., Riobó, P., Belmonte, S., Anadón, A., Aranceta, J., Franco, E., García-Closas, R., Gómez-Candela, C., Herrero, E., La Vecchia, C., López-Díaz-Ufano, M.L., Varela-Moreiras, G., Vázquez, J., Ribas-Barba, L., Alcaraz-Cebrián, F., García-Luna, P.P., González-Gomis, M., González-Gross, M., Granado, S., López-Sobaler A.M., Moreno, J.M., Ortega, R.M., Pérez-Rodrigo, C., Polanco, I., Urrialde, R. 2014. Chinchón declaration: Decalogue on low- and no-calorie sweeteners (LNCS). *Nutrición Hospitalaria*. 29(4): 719-734. <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2014.29.4.7393>
- Softic, S., Cohen, D., Kahn, R. 2016. Role of dietary fructose and hepatic *de novo* lipogenesis in fatty liver disease. *Digestive Diseases and Sciences*. 61(5): 1282-1293.
<https://doi.org/10.1007/s10620-016-4054-0>
- Softic, S., Gupta, M.K., Wang, G.X., Fujisaka, S., O'Neill, B.T., Rao, T.N., Newgard, C.B. 2017. Divergent effects of glucose and fructose on hepatic lipogenesis and insulin signaling. *The Journal of Clinical Investigation*. 127(11): 4059-4074.
- Statpoint Technologies. 2009a. Manual de Usuario de Statgraphics Centurion XVII.I. Prueba de Grubbs. Las Llanuras, EE.UU.
- Statpoint Technologies. 2009b. Manual de Usuario de Statgraphics Centurion XVII.I. Prueba de Levene. Las Llanuras, EE.UU.

- Statpoint Technologies. 2009c. Manual de Usuario de Statgraphics Centurion XVI.I. Prueba de Shapiro-Wilk. Las Llanuras, EE.UU.
- Statpoint Technologies. 2009d. Manual de Usuario de Statgraphics Centurion XVI.I. Análisis de varianza (ANDEVA). Las Llanuras, EE.UU.
- Statpoint Technologies. 2009e. Manual de Usuario de Statgraphics Centurion XVI.I. Prueba de rangos múltiples de Duncan. Las Llanuras, EE.UU.
- Statpoint Technologies. 2009f. Manual de Usuario de Statgraphics Centurion XVI.I. Prueba de Kruskal-Wallis. Las Llanuras, EE.UU.
- Surana, S.J., Gokhala, S.B., Rajmane, R.A., Jadhav, R.B. 2006. Non- saccharide natural intense sweeteners – an overview of current status. *Natural Product Radiance*. 5(4):270–278.
- Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C.A., 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*. 7521: 181-186.
- Swithers, S.E., Martin, A.A., Davidson, T.L. 2010. High-Intensity sweeteners and energy balance. *Physiology & Behavior*. 100(1): 55-62.
- Tappy, L., Egli, L., Tran, C. 2014. Metabolism of nutritive sweeteners in humans. In *Fructose, High Fructose Corn Syrup, Sucrose and Health*. Rippe, J. (ed). Humana Press. 35-50. Nueva York, EE.UU.
- Tejero, M.E. 2008. Genética de la obesidad. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*. 65(6): 441-450. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462008000600005&lng=es&tlng=es
- Tsiloulis, T., Watt, M.J. 2015. Exercise and the regulation of adipose tissue metabolism. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 135: 175–201. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2015.06.016>
- Vavasour, E. 1993. Saccharin and its salts. WHO Food Additives Series. 32:105-133. Ottawa, Ontario, Canadá.
- Vega-Jiménez, J.A., 2019. Uso de un modelo animal para evaluar la ingestión crónica de edulcorantes hipocalóricos: Mediciones de colesterol, triglicéridos y glucosa en suero sanguíneo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. Ciudad de México, México.

- Walpole, R.E., Myers, R.H., Myers, S.L. 2012. Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias. Novena edición. Pearson Educación. Pp. 507-550. Ciudad de México, México.
- Wang, Q.P., Lin, Y.Q., Zhang, L., Wilson, Y.A., Oyston, L.J., Cotterell, J., Neely, G.G. 2016. Sucralose promotes food intake through NPY and a neuronal fasting response. *Cell Metabolism*. 24(1) 75-90. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.06.010>
- Wang, Y., Viscarra, J., Kim, S.J., Sul, H. S. 2015. Transcriptional regulation of hepatic lipogenesis. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. 16(11): 678–689. <https://doi.org/10.1038/nrm4074>
- Weihrauch, M.R., Diehl, V. 2004. Artificial sweeteners—do they bear a carcinogenic risk? *Annals of Oncology*. 15(10): 1460-1465. doi:10.1093/annonc/mdh256
- Yoo, S., Nicklas, T., Baranowski, T., Zakeri, I.F., Yang, S.J., Srinivasan, S.R., Berenson, G.S. 2004. Comparison of dietary intakes associated with metabolic syndrome risk factors in young adults: The Bogalusa Heart Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 80(4):841-848. doi: 10.1093/ajcn/80.4.841.
- Zamora, S., Pérez, F. 2013. Importancia de la sacarosa en las funciones cognitivas: Conocimiento y comportamiento. *Nutrición Hospitalaria*. 28(4): 106-111. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013001000013&lng=es&tlng=es