



---

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

ALTERACIONES TISULARES Y CAMBIOS METABÓLICOS,  
BIOQUÍMICOS, FISIOLÓGICOS Y CONDUCTUALES  
RELACIONADOS CON EL CONSUMO DE EDULCORANTES NO  
NUTRITIVOS

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

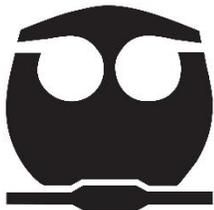
QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

Diana Velázquez Cuéllar

TUTORA

Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa





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:** DURÁN DOMÍNGUEZ MARÍA DEL CARMEN

**VOCAL:** SEVERIANO PÉREZ PATRICIA

**SECRETARIO:** BERNAL GONZÁLEZ MARISELA

**1er. SUPLENTE:** RAMÍREZ BURGOS LANDY IRENE

**2° SUPLENTE:** GARCÍA GÓMEZ ROLANDO SALVADOR

### LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA TESIS:

LABORATORIOS 301, 302 Y 303 DE INGENIERÍA QUÍMICA AMBIENTAL Y DE QUÍMICA AMBIENTAL. CONJUNTO E. FACULTAD DE QUÍMICA

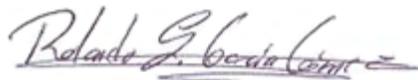
**ASESORA DEL TEMA:**



\_\_\_\_\_

**Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa**

**SUPERVISOR TÉCNICO:**



\_\_\_\_\_

**M en C. Rolando Salvador García Gómez**

**SUSTENTANTE:**



\_\_\_\_\_

**Diana Velázquez Cuellar**

# RECONOCIMIENTOS

A mi querida Facultad de Química y en general a la Universidad Autónoma de México por darme increíbles aprendizajes personales y profesionales. Además de la oportunidad de tener una carrera universitaria

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM ya que por medio del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) Número IN-217619 “Efecto del consumo de edulcorantes sobre la actividad de las enzimas reguladoras de la glucólisis y la lipogénesis en extractos de hepatocitos y sus implicaciones metabólicas sobre el exceso de masa corporal y la obesidad” fue posible la adquisición de los materiales y reactivos empleados y que sin ellos, no hubiera sido posible obtener los datos para completar esta investigación

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

Al M. en C. Rolando Salvador García Gómez por el apoyo y valiosa asesoría técnica brindada durante toda la realización de este trabajo a distancia durante la pandemia por COVID-19

Al personal académico y administrativo de la Facultad de Química ya que gracias a sus enseñanzas y esfuerzo hicieron posible la culminación de este proyecto, así como la realización de mi carrera universitaria

A mis compañeros de los Laboratorios E-301,302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental que conocí de manera virtual durante la Pandemia por COVID-19 y que se encontraban realizando sus tesis también de manera virtual. Gracias por las amenas reuniones por ZOOM que tuvimos durante ese tiempo

## DEDICATORIAS

A Dios por darme la paciencia de terminar mi carrera universitaria, siendo uno de los principales y más grandes objetivos en mi vida. Por darme el sustento, inspiración y fuerza para culminarlo

A mi madre Maribel, por ser papá y mamá toda mi vida. Gracias por darme inspiración para seguir cumpliendo mis sueños y ambiciones. Por permitirme contar con un estudio digno, buen juicio y ser una mujer independiente

A mi tío Armando, por tomar el lugar de mi padre siempre incitándome a aspirar por algo más grande y enseñándome a ser un ser humano noble y leal. También a mis abuelos “Don Rafa” y Cristi, por siempre ser mi guía y ejemplo para seguir brindándome todo su amor y cariño. A todos los admiro y amo por igual

A los amigos que me brindó la FQ, por acompañarme durante todos mis altibajos dentro de los años universitarios. Sin sus consejos, risas y salidas no lo hubiese logrado. Agradezco a Dios por ponerlos en mi camino

A mis profesores de la Facultad de Química que me guiaron dentro de esta difícil disciplina para ser una profesional preparada para el mundo laboral, siempre brindándome sus enseñanzas y apoyo para terminar mis asignaturas con éxito. ¡Muchas Gracias!

## DECLARATORIA

"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 Velázquez Cuéllar**

## ÍNDICE

		<b>Página</b>
	<b>GLOSARIO</b>	
	<b>RESUMEN</b>	
	<b>CAPÍTULO 1. PROBLEMÁTICA</b>	<b>1</b>
1.1.	Introducción	1
1.2.	Justificación	1
1.3.	Objetivos	3
1.3.1.	Objetivo general	3
1.3.2.	Objetivos particulares	3
1.4.	Hipótesis del trabajo	3
	<b>CAPÍTULO 2. FUNDAMENTOS</b>	<b>4</b>
2.1.	Breve historia de los edulcorantes	4
2.2.	Edulcorantes como parte de la industria alimentaria	5
2.3.	Edulcorantes no nutritivos o intensos	6
2.3.1.	Edulcorantes no nutritivos sintéticos o artificiales	6
2.3.1.1.	Acesulfame K	7
2.3.1.2.	Aspartame	7
2.3.1.3.	Ciclamato de sodio	8
2.3.1.4.	Sacarina	8
2.3.2.	Edulcorantes no nutritivos de origen natural	9
2.3.2.1.	Estevia	9
2.3.2.2.	Glicirricina	10
2.3.2.3.	Monelina	11
2.3.2.4.	Taumatinas (I y II)	12
2.3.3.	Polioles o polialcoholes	12
2.3.3.1.	Manitol	13
2.3.3.2.	Xilitol	13
2.4.	Anatomía e histología de los tejidos	14
2.4.1.	Riñones	14

		<b>Página</b>
2.4.1.1.	Organización estructural	15
2.4.2.	Hígado	23
2.4.2.1.	Organización estructural	24
2.5.	Tipos de tinciones histológicas	28
2.5.1.	Tinciones bicrómicas	28
2.5.2.	Tinciones tricrómicas	29
2.5.3.	Tinciones selectivas	31
2.6.	Patologías relacionadas	35
2.6.1.	Obesidad	35
2.6.2.	Diabetes <i>mellitus</i> tipo II	36
2.6.3.	Hígado graso no alcohólico	37
2.6.4.	Enfermedad renal crónica	38
2.6.5.	Nefropatía diabética o enfermedad renal crónica diabética (ERCD)	38
	<b>Capítulo 3. METODOLOGÍA</b>	<b>40</b>
3.1.	Descripción de la metodología	40
3.2.	Metodología propuesta en la bibliografía consultada	40
	<b>Capítulo 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>43</b>
4.1.	Observaciones en hígado y riñones por consumo de edulcorantes no nutritivos	44
4.2.	Alteraciones bioquímicas	49
4.3.	Alteraciones fisiológicas	53
4.4.	Alteraciones conductuales	55
4.5.	Alteraciones tisulares	58
	<b>Capítulo 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>61</b>
5.1.	Conclusiones	61
5.2.	Recomendaciones	63
	<b>ANEXO</b>	<b>65</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>66</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1.	Componentes tisulares y colores mostrados por tinción H-E (Tomada de Guerrero-Alquicira et al., 2017)	29
2.	Tinciones tricrómicas y colores que exhiben los componentes tisulares (Tomado de Guerrero-Alquicira et al.,2017)	30
3.	Valores metabólicos estudiados (Tomado de Schiano, 2019)	52
4.	Efecto del aspartame (ASP) en sangre (Tomado de Prokić, 2014)	53
5.	Comparativa de estudios que describen la asociación entre el consumo de edulcorantes no nutritivos y el riesgo de desarrollar diabetes <i>mellitus</i> tipo II (Tomada y modificada de Daher, 2019)	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1.	Acesulfame de potasio (Espinoza- Pérez y García-Sánchez, 2018)	7
2.	Aspartame (Espinoza- Pérez y García-Sánchez, 2018)	8
3.	Ciclamato de sodio (Espinoza- Pérez y García-Sánchez, 2018)	8
4.	Sacarina (Espinoza- Pérez y García-Sánchez, 2018)	9
5.	Fórmula molecular, masas moleculares, estructuras y poder edulcorante de los derivados de la <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Sylvetsky et al.,2018)	10
6.	Glicirricina (Sylvetsky et al., 2018)	10
7.	Representación en dibujo animado 3D de la estructura de la monelina (Sylvetsky et al., 2018)	11
8.	Secuencias de nucleótidos de Taumatina I y II a partir de datos de diferentes autores (Sylvetsky et al., 2018)	12
9.	Manitol (Sylvetsky et al., 2018)	13
10.	Xilitol (Sylvetsky etl al.,2018)	13
11.	Riñón izquierdo (Carretero et al.,2017)	15
12.	Corte histológico horizontal del riñón (Carretero et al.,2017)	16

<b>Figura</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
<b>13.</b>	Vista panorámica del riñón (Carretero et al., 2017)	18
<b>14.</b>	Estructura del corpúsculo renal H-E 400X (Navarro et al., 2017)	19
<b>15.</b>	Sistema completo de microfiltración de orina del riñón humano (Vidal-Riella et al.,2015)	20
<b>16.</b>	Sistema tubular completo del riñón humano (Vidal-Riella et al.,2015)	22
<b>17.</b>	Sistema glomerular del riñón humano (Vidal-Riella et al.,2015)	23
<b>18.</b>	Acercamiento del aparato yuxtaglomerular y su ubicación dentro del sistema renal (Vidal-Riella et al.,2015)	24
<b>19.</b>	Lóbulos del hígado (Navarro et al., 2017)	25
<b>20.</b>	Lóbulo hepático H-E 400X (Navarro et al., 2017)	27
<b>21.</b>	Comparación entre el lobulillo clásico, portal y acino hepático (Ross y Wojciech, 2012a)	27
<b>22.</b>	Corte de riñón teñido con H-E (Departamento de Biología Celular y Tisular, 2021)	29
<b>23a.</b>	Corte de lengua teñido con tinción Masson (Guerrero-Alquicira et al.,2017)	30
<b>23b.</b>	Corte de lengua teñido con tinción Gomori (Guerrero-Alquicira et al.,2017)	30
<b>24a.</b>	Corte de hígado teñido con PAS (Guerrero-Alquicira et al.,2017)	31
<b>24b.</b>	Hígado teñido con tinción Carmín de Best (Departamento de Biología Celular y Tisular, 2021)	31
<b>25a.</b>	Tejido adiposo teñido con tetraóxido de osmio (Departamento de Biología Celular y Tisular, 2021)	32
<b>25b.</b>	Tejido adiposo teñido con rojo oleoso (Departamento de Biología Celular y Tisular, 2021)	32
<b>26.</b>	Cortes de elementos vasculares con tinciones específicas para fibras elásticas (Guerrero-Alquicira et al.,2017)	33
<b>27.</b>	Corte de bazo teñido con técnica de Wilder (Guerrero-Alquicira et al.,2017)	34

<b>Figura</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
<b>28.</b>	Relación del IMC con la mortalidad (Lerman-Garber y Brito-Córdova, 2015)	36
<b>29.</b>	Esteatosis hepática H-E 400X (Maris-Daniele et al., 2007)	37
<b>30.</b>	Microfotografía de hígado de rata macho con degeneración vacuolar moderada y fibrosis/inflamación leve por el consumo de acesulfame de K durante 120 días experimentales (Espinoza- Pérez y García-Sánchez, 2018)	46
<b>31.</b>	Microfotografías de hígados de rata embebidos en parafina tratados con diferentes aditivos H-E 400 X (Abo-EL-Sooud et al., 2018)	46
<b>32.</b>	Micrografías de riñones de ratas macho que consumieron diferentes edulcorantes durante 120 días (Espinoza- Pérez y García-Sánchez, 2018)	47
<b>33.</b>	Microfotografías de riñón de rata embebidos en parafina tratados con diferentes aditivos (Abo-EL-Sooud et al., 2018)	48
<b>34a.</b>	Datos obtenidos de ratas macho con un consumo de edulcorantes por 104, 197 y 288 días. Promedio de glucosa en sangre en ayunas en las tres etapas experimentales (Mendoza-Pérez et al., 2020)	50
<b>34b.</b>	Datos obtenidos de ratas macho con un consumo de edulcorantes por 104, 197 y 288 días. Promedio de niveles de triglicéridos en las tres etapas experimentales (Mendoza-Pérez et al., 2020)	50
<b>35a.</b>	Datos obtenidos de ratas macho con un consumo de edulcorantes durante 104, 197 y 288 días. Promedio de los niveles de colesterol total en las tres etapas experimentales (Mendoza-Pérez et al., 2020)	50
<b>35b.</b>	Datos obtenidos de ratas macho Wistar con un consumo de edulcorantes por 104, 197 y 288 días. Promedio de los niveles de insulina en las tres etapas experimentales (Mendoza-Pérez et al., 2020)	50
<b>36.</b>	Contenido de neurotransmisores en ratones (Yin et al, 2019)	58
<b>37a-d.</b>	Microfotografías de tejido cardíaco de rata con consumo de aspartame durante 90 días (Choudhary, 2016)	59



## GLOSARIO DE TÉRMINOS

**Ad libitum:** Expresión en latín que se traduce como a gusto o a voluntad

**Acesulfame de K:** Edulcorante de tipo no nutritivo 200 más dulce que la sacarosa

**Aditivo:** Sustancia que se añade a los alimentos para mantener o mejorar su inocuidad, su frescura, su sabor, su textura y/o aspecto

**Angiogénesis:** Formación de nuevos vasos sanguíneos en tejidos normales o anormales dentro de un individuo

**Agente etiológico:** Organismo biológico (virus, bacteria, hongo o parásito) capaz de producir enfermedad ya sea de manera directa o a través de sus toxinas

**Aminoácido:** Unidad formadora de proteínas. Moléculas orgánicas que contienen un grupo amino (-NH<sub>2</sub>) en uno de los extremos de la molécula y un grupo carboxilo (-COOH) en el otro extremo

**Anatomía:** Es la ciencia o rama de la biología que estudia la organización y estructura de los seres vivos en sus diversos estados evolutivos

**Anhidro:** Que no contiene en su estructura ninguna molécula de agua

**Carcinogenicidad:** Capacidad que tiene una sustancia de propiciar la formación de células cancerígenas dentro de un organismo vivo

**Caries:** Destrucción de una parte de un hueso, en este caso un diente. Es un tipo de necrosis ósea que generalmente se presenta en inflamaciones crónicas con producción de absceso en los tejidos

**Citomorfoloía:** Estudio de la estructura y forma de las células

**Colesterol:** Alcohol esteroide con aspecto de una grasa. Se encuentra presente en grasas de origen animal, aceites, bilis, sangre, huevo (yema), etc. Es precursor de los ácidos biliares y constituye la materia prima para la síntesis de las hormonas esteroideas

**Diabetes mellitus:** Afección crónica que aparece cuando el páncreas no es capaz de producir suficiente insulina o cuando el organismo no consigue utilizar la insulina que produce debido a una mala calidad de esta misma.

**Diálisis:** Procedimiento que elimina los productos de desecho y el exceso de líquido de la sangre que los riñones no pueden eliminar. La diálisis realiza la función que normalmente hacen los riñones cuando se encuentran sanos

**Dieta:** Patrón de ingesta de alimentos sólidos y líquidos que adopta una persona o un animal. Puede modificarse específicamente con fines terapéuticos y existen numerosos tipos, según su finalidad: Con mayor o menor número de calorías, absoluta, con más o menos cantidad de proteína, de carbohidratos, de grasas, libre de gluten, de purinas, de bajo o alto contenido de fibra vegetal, etc.

**Edulcorante:** Aditivo de uso alimentario o farmacéutico que proporciona el sabor dulce en mayor proporción que la sacarosa, pero que generalmente aporta una menor cantidad de energía

**Efecto citotóxico:** Acción producida por un citotóxico que es una sustancia que elimina células, como las cancerosas. Estos medicamentos pueden impedir que este tipo de células se dividan y crezcan, y pueden disminuir el tamaño de los tumores

**Endotelio:** Epitelio plano que tapiza el sistema cardiovascular y las cavidades serosas, como la pleura y el peritoneo

**ERC:** Enfermedad renal crónica

**ERCD:** Enfermedad renal crónica diabética

**Exudado:** Cualquiera de las sustancias secretadas a través de los poros de los tejidos enfermos o dañados de plantas o árboles. Resinas, gomas, aceites y lacas son ejemplos de exudados que se extraen con finalidades industriales

**Sistema endócrino:** Es el conjunto de glándulas que secretan hormonas enviadas a circulación sanguínea para ejercer efectos sobre órganos y tejidos diana

**Glúcidos:** También conocidos como carbohidratos o hidratos de carbono, son compuestos orgánicos formados por carbono, hidrógeno y oxígeno, con la fórmula general  $(CH_2O)_n$ , incluyen los malamente denominados “azúcares”, almidones y celulosa. Son las principales sustancias que tienen la función metabólica de producir energía en los organismos

**Glucoproteínas:** Conjunto de proteínas conjugadas que contienen uno o más fragmentos de carbohidratos unidos mediante enlaces covalentes. El término es empleado en referencia a mucoproteínas y proteinglicanos

**Glucosaminoglicanos (GAG):** Son carbohidratos, conocidos también como glicanos, organizados en cadenas de heteropoliglúcidos; generalmente se encuentran compuestos de hexosamina y ácido glucurónico, los GAG, normalmente se encuentran unidos a una proteína denominada *core*, dando lugar a la formación de proteoglicanos. Se encuentran ampliamente distribuidos en los tejidos animales

**Glutación:** Hormona polipeptídica segregada por las células de los islotes de Langerhans, que aumentan la glucemia, estimulando la glucogenólisis del hígado. Posee por tanto un comportamiento inverso al de la insulina

**Grelina:** Péptido residual formado por 28 aminoácidos, producido principalmente en el estómago (células del fundus), aunque también se secreta desde intestino, páncreas, riñones, pulmón, placenta, testículos, pituitaria e hipotálamo. Es capaz de actuar sobre circuitos neuronales centrales implicados en la ingesta de alimento y gasto de energía, situados en el hipotálamo y en el tallo cerebral

**Higroscópico:** Propiedad que tiene una sustancia capaz de absorber humedad del medio

**Hipertensión:** Aumento mantenido de las cifras de la presión arterial por encima de sus valores normales

**Hipertrofia:** Aumento del tamaño de un órgano o tejido secundario al aumento de tamaño de sus células constituyentes. Generalmente, es producto de la adaptación a sobrecargas funcionales exigidas a dichos órganos. En los órganos huecos como son el corazón, la hipertrofia puede ser excéntrica, con dilatación de la cavidad, o concéntrica, sin dilatación de la cavidad

**Homeostasis vascular:** Equilibrio entre la lesión y reparación vascular

**Hormona:** Se define como una sustancia química, que tiene una función específica dentro del organismo, secretada por las glándulas endocrinas que alcanza un órgano diana a través de la sangre

**Infiltración:** Difusión o acumulación en un tejido. En particular el tejido conjuntivo, de alguna sustancia o estructura celular que le es extraña o en cantidades excesivas respecto con lo normal. Puede ser un líquido (suero, sangre, solución anestésica), gases (gangrena gaseosa) o elementos celulares (leucocitos, eosinófilos, células neoplásicas)

**IDA:** Ingesta diaria aceptable en los humanos de alguna sustancia y/o aditivo

**Insulina:** Hormona polipeptídica segregada por las células de los islotes pancreáticos. Sus propiedades principales son: Favorecer la utilización de la glucosa por parte de las células y la glucogénesis hepática. Como consecuencia de estas dos acciones disminuye la glucemia

**Leptina:** Proteína sintetizada por los adipocitos que aumentan la termogénesis e inhibe el apetito a nivel hipotalámico. Su deficiencia da lugar a la obesidad

**Isquemia:** Falta absoluta o déficit de perfusión hística como consecuencia de una disminución o ausencia del aporte de sangre oxigenada arterial. La carencia de oxígeno determina enfriamiento, palidez, pérdida de volumen y disfunción del órgano afectado. Si la hipoxia es importante o prolongada puede dar lugar al infarto de dicho órgano

**Microbiota intestinal:** Hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos residentes en un nicho ecológico determinado, en este caso, del intestino

**Microvellosidad:** Protuberancia o evaginación, en forma digital, que aparece en las células con un alto poder de absorción. Se localiza en la superficie citoplasmática del polo absortivo de determinadas células epiteliales, como en los enterocitos de la mucosa intestinal y en el epitelio de los túbulos renales. Constituye el llamado ribete en cepillo de dichos epitelios. Contiene diversas enzimas y posee propiedades de transporte activo

**Neoplasma–Neoplasia:** Masa anormal de tejido que aparece cuando las células se multiplican más de lo debido o el proceso de apoptosis no se lleva a cabo correctamente. Existen dos tipos, benignas y malignas. Las primeras pueden crecer mucho pero no se diseminan y tampoco invaden los tejidos cercanos ni otras partes del cuerpo. Las segundas suelen diseminarse o invadir los tejidos

cercanos y también es posible que se diseminen a otras partes del cuerpo a través de la sangre y el sistema linfático

**PAS:** *Periodic Acid Schiff* por sus siglas en inglés. Tinción para observar la citomorfología de las células de soporte de los tejidos

**Patología:** Parte de la medicina que estudia las enfermedades. Según los aparatos, se diferencian las distintas especialidades médicas: patología digestiva, neurológica y cardiovascular, entre otros

**Protrusiones:** Desplazamiento de un segmento o un órgano por aumentar de volumen o empujado por otro

**Proteína Core:** Es la subunidad estructural de la cápside viral. El extremo C-terminal altamente hidrofóbico, media la translocación de la poliproteína al retículo endoplasmático donde es hidrolizada por una proteasa celular entre los residuos 191 y 192, dando origen a la isoforma p23 de la proteína

**Rizoma:** Tallo horizontal y subterráneo

**Termoestable:** Que no se altera fácilmente por la acción del calor

**Triglicéridos:** Molécula de glicerol en la que los tres grupos hidroxilo se encuentran esterificados por ácidos grasos. Son constituyentes de las grasas animales y vegetales

**Ultrafiltración glomerular:** Proceso del paso de líquidos (prácticamente sin proteínas) a través del capilar glomerular. El capilar puede ser atravesado por moléculas neutras, con un radio molecular inferior a 20 amstroms (que se filtran libremente), pero no por los que son superiores a 50 amstroms. Se rige por la ley de Starling, en la que el factor clave es el gradiente de la presión hidráulica transcapilar. Puede ser estudiada en nefronas, aisladas mediante diversas técnicas. En su control participan diversas hormonas y sustancias vasoactivas, tanto vasodilatadoras como vasoconstrictoras

**Notas:** Esta tesis utiliza el punto decimal de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema General de Unidades de Medida (DOF, 2009). Esta tesis tiene los guarismos junto a % y °C. Las abreviaturas de las locuciones latinas *et cetera* y *et altere* se escribirán sin cursivas (etc., et al.)

## RESUMEN

En México y en el mundo, una de las mayores problemáticas que se tienen son los índices de exceso de masa corporal y obesidad que en los últimos años se han venido desarrollado de una manera más acelerada. Debido a esta alarmante situación, se han presentado diferentes padecimientos crónicos relacionados con problemas metabólicos en edades cada vez más tempranas. Buscando una solución para disminuir esta problemática, se implementó el uso de los edulcorantes no nutritivos ya sea de origen sintético o naturales, en el entendido de que al eliminar el suministro calórico de los edulcorantes nutritivos se podría controlar el incremento de estas enfermedades. Sin embargo, esto no ha sucedido, ya que se ha visto en aumento este tipo de enfermedades, así como también las de tipo crónico degenerativas como es la diabetes *mellitus*, entre otras. En la presente investigación se indagó sobre algunos estudios que permitieran evidenciar estas contraindicaciones. La presente recopilación bibliográfica se basa principalmente en el trabajo de tesis realizado por Espinoza-Pérez y García-Sánchez (2018), donde se observaron diferentes alteraciones a nivel histológico y bioquímico en algunos tejidos de ratas que consumieron edulcorantes no nutritivos centrándose en los tejidos de hígado y riñón. Para complementar la información expuesta por los autores anteriores, se realizaron comparaciones con otros estudios encontrados en diferentes fuentes digitales como la biblioteca digital de la UNAM (BIDI-UNAM), con la finalidad de evaluar, si además de estos aditivos, algunos otros utilizados en la industria de alimentos pudieran causar alteraciones similares al provocar algún tipo de sinergia. Adicionalmente, también se incluyeron alteraciones de tipo conductual, fisiológico y tisular en otro tipo de tejidos. Entre los hallazgos observados, se corroboró que algunas fuentes bibliográficas sugirieron la existencia de alteraciones de este tipo presentándose principalmente por el consumo de edulcorantes no nutritivos sintéticos como el aspartame y al acesulfame de K. Algunas de las alteraciones bioquímicas también se presentaron por el consumo de edulcorantes no nutritivos

naturales, como fue el caso de los derivados de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni. Por ello, es claro que los edulcorantes, no importando si son nutritivos o no, pueden ser dañinos para el organismo como fue corroborado en estudios realizados en organismos vivos que consumieron edulcorantes y otros aditivos alimentarios consultados en esta investigación. Otro de los propósitos de este estudio fue la generación de conciencia por parte de los consumidores sobre la ingesta de estos aditivos alimentarios, en donde todavía se desconocen muchos de los efectos que ocasionan en los organismos a largo plazo. Esto sin importar que, en muchas ocasiones, se interponen intereses monetarios para favorecer su consumo desde edades cada vez más tempranas, conllevando a presentarse algún tipo de patología o carencia nutrimental entre la población con mayor vulnerabilidad por la mala información sobre el consumo constante de estos aditivos alimentarios. Por ello, se espera que este documento sirva para concientizar también a las industrias alimentaria y refresquera en volver a sus raíces y emplear aditivos naturales que no repercutan negativamente en la salud humana.

**Palabras clave:** Edulcorantes no nutritivos, alteraciones tisulares, cambios metabólicos, bioquímicos, fisiológicos, conductuales

# CAPÍTULO 1

## PROBLEMÁTICA

### 1.1. Introducción

Dentro de la industria alimentaria, se encuentran los edulcorantes que imparten características sensoriales de dulzor en los productos que los contienen. Los edulcorantes pueden ser de tipo natural o artificial, que se dividen como calóricos o nutritivos e hipocalóricos o no nutritivos, respectivamente. Estos últimos, debido a la propaganda que se tiene de no consumir edulcorantes naturales como la sacarosa, están siendo preferidos por una gran parte de la población, ya que se cree que al no generar un aporte calórico y/o respuesta glucémica dentro del organismo, se facilita el manejo de la masa corporal de un individuo y la prevención de las caries dentales (Das y Chakraborty, 2016).

La realidad que se tiene con este tipo de edulcorantes no nutritivos es otra, ya que al no ser compuestos fisiológicamente inertes, pueden causar distintos efectos metabólicos hacia la salud del consumidor. Ejemplos de ello son la afectación del equilibrio energético, la función metabólica y la reducción de la secreción de hormonas metabólicas como la insulina, la grelina y la leptina. Además, afectan los procesos cognitivos y también los de la microbiota intestinal (Burke y Small, 2015). Por lo que en esta fase de la investigación se referirá solamente a los edulcorantes no nutritivos.

### 1.2. Justificación

Debido a que los edulcorantes artificiales son el objeto de la presente investigación se han encontrado diferentes efectos adversos por su consumo crónico, generando entre los consumidores impactos importantes dentro la percepción del sabor dulce (Burke y Small, 2015).

Autores como Saraiva et al. (2020), han reportado un aumento de la masa del hígado y su hipertrofia debido al consumo crónico de tagatosa en ratas. Particularmente se demostró que el suministro de aspartame en ratas de la estirpe Sprague-Dawley tratadas con dosis variables, producía un exceso aparente de neoplasmas linfáticos en hembras (Durán-A, 2013). También existen estudios experimentales indicando que el consumo de aspartame cercano al IDA para humanos presentó potencial carcinogenicidad en líneas celulares de colon y un aumento en la incidencia de cáncer de mama, linfoma y leucemia en ratas en relación dosis-respuesta del edulcorante (Jatho, 2021).

Por ello, en esta investigación se realizó una recopilación bibliográfica donde se encontraron entre otros, patologías en tejidos de hígados y riñones debido al consumo crónico de edulcorantes no nutritivos a largo plazo, ya que en un experimento que inició en el 2018 y terminó en el 2019, con una duración de 480 días se emplearon ratas hembra y macho de la estirpe Wistar. Estos animales modelo consumieron edulcorantes naturales y artificiales desde su destete y a lo largo de este lapso. Se realizaron dos eutanasias humanitarias a la mitad y finalización del experimento obteniendo los hígados, corazones, riñones y otros órganos para realizar observaciones microscópicas sobre los posibles efectos adversos que pudieron haberles ocasionado quedando pendiente su análisis. Sin embargo, se buscó evidencia de otros artículos que evidenciaran los posibles efectos ocasionados en estos órganos para en su momento, poder realizar su comparación.

Al ser parte de la dieta diaria, sobre todo en la población que presenta enfermedades crónicas, como son la diabetes *mellitus* y la hipertensión, se han llevado a cabo diferentes estudios con el objetivo de conocer la seguridad sobre el consumo sobre estos aditivos alimentarios. Aunque los fabricantes sugieren que los edulcorantes artificiales son compuestos inertes dentro del organismo, se

siguen estudiando los posibles efectos adversos que ocasionan el consumo de estas sustancias (Gardner et al., 2012).

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Realizar una revisión bibliográfica en distintas bases indexadas de la BIDI-UNAM evaluando la posible existencia de daños hepáticos y nefrológicos en roedores de la estirpe Wistar ocasionados por el consumo crónico de edulcorantes no nutritivos a largo plazo.

#### **1.3.2. Objetivos particulares**

- Mediante investigación bibliográfica, determinar evidencias sobre la existencia de daños histológicos, bioquímicos, conductuales, fisiológicos y tisulares en dos órganos de ratas de la estirpe Wistar dados por el consumo de edulcorantes artificiales o hipocalóricos.
- Conocer las técnicas de coloración que son empleadas en los estudios histológicos comparando los aspectos sanos de los tejidos hepáticos y nefrológicos contra alguna lesión ocasionada por el consumo de edulcorantes.
- Comparar los daños histológicos ocasionados por otro tipo de aditivos alimentarios frente a los observados con el consumo de edulcorantes no nutritivos.

### **1.4. Hipótesis del trabajo**

El consumo crónico de edulcorantes no nutritivos suministrados “*ad libitum*” durante 480 días en ratas de la estirpe “Wistar” recién destetadas generarán daños en dos órganos: Hígado y riñones, al compararse con un grupo control que consumió agua simple.

## **CAPÍTULO 2**

### **FUNDAMENTOS**

#### **2.1. Breve historia de los edulcorantes**

El primer edulcorante del cual se tiene conocimiento es la miel de abeja proveniente de las antiguas civilizaciones de China y Egipto. Posteriormente, durante las Guerras Mundiales fue reemplazado por la sacarosa obtenida de la caña de azúcar. Generalmente, los glúcidos como son la sacarosa obtenida de la caña de azúcar y la fructosa obtenida de las mieles hidrolizadas del maíz son utilizados en diferentes productos alimenticios como son las bebidas carbonatadas no alcohólicas y en alimentos en general para conferir dulzor. Sin embargo, en muchas ocasiones, por cuestiones publicitarias, son consumidos de manera excesiva, ocasionando un problema de salud pública sobre todo en países industrializados debido a las enfermedades que ocasionan tales como el exceso de masa corporal y la obesidad entre otros. Lo anterior hizo que, para resolver este problema de tipo multifactorial, se hayan promovido la búsqueda de alternativas para los edulcorantes con un alto contenido calórico (Cherón et al., 2019).

Atendiendo a esta búsqueda, se han desarrollado diferentes alternativas de edulcorantes no nutritivos, siendo el primer edulcorante de este tipo la sacarina. Este edulcorante no nutritivo, fue desarrollado en 1879 en Estados Unidos y, a partir de los años 60, la generación y consumo de este tipo de edulcorantes aumentó por la industria alimentaria como sustitutos alternativos al consumo de glúcidos naturales (Das y Chakraborty., 2016; Shankar et al., 2013).

Con la idea de disminuir la ingesta calórica por el consumo de edulcorantes nutritivos, surgen los edulcorantes de tipo no nutritivos. Este tipo de compuestos generalmente producen en los consumidores una idea errónea de lo que es “saludable” en los productos que los contienen. Sin embargo, su consumo ha sido progresivo a lo largo del tiempo y también lo son las enfermedades metabólicas (Saraiva et al., 2020).

## **2.2. Edulcorantes como parte de la industria alimentaria**

Dentro de la actual industria de los alimentos, los glúcidos son utilizados para proporcionar un sabor dulce más que como conservadores como ocurría antaño. Generalmente, son considerados moléculas que además de proporcionar este sabor característico, aportan energía al individuo que los consume. Sin embargo, cuando son ingeridos en exceso y son combinados con un estilo de vida sedentario, generan un excedente calórico asociado con alteraciones celulares y metabólicas, aumentando el riesgo a desarrollar enfermedades crónico-degenerativas como son la obesidad, el síndrome metabólico y la diabetes *mellitus* afectando de esta manera, la calidad de vida de quienes los consumen (Stephens-Camacho et al., 2018).

Debido a los problemas de salud que tienden a desarrollar algunos de este tipo de edulcorantes como, por ejemplo, la fructosa obtenida de la hidrólisis del maíz para obtener las mieles fructosadas, la industria alimentaria ha sustituido este tipo de edulcorantes nutritivos por aquellos no nutritivos naturales o artificiales como sustituyente de estos glúcidos. Ambos tipos de edulcorantes presentan requisitos importantes para su utilización, entre los que destacan los siguientes: a) El dulzor percibido deberá de sentirse inmediatamente tras su ingesta, b) Deberán contar con capacidad de degradación rápidamente, c) El sabor deberá de ser parecido al de la sacarosa y d) El aporte calórico deberá de ser sensiblemente más bajo que este último glúcido (Reyes-Asto, 2017).

Es importante mencionar que los edulcorantes hipocalóricos y su seguridad e inocuidad aún son tema de controversia, y muchos de ellos se encuentran en las bebidas endulzadas no alcohólicas. Este hecho puede deberse a que los consumidores desconocen el tipo de endulzante que contienen este tipo de bebidas y creen que al estar adicionadas en ellas sean de alguna manera seguras. Por otro lado, muchos de los edulcorantes no nutritivos, como la sucralosa, por sus características idóneas en alimentos, al ser termoestable, cada vez es empleada en un ilimitado número de alimentos horneados, postres de leche congelados, goma de mascar, jugos de fruta y gelatinas entre otros (Reyes-Asto, 2017). Adicionalmente, los edulcorantes hipocalóricos de origen natural constituyen un área dinámica dentro del campo de los aditivos alimentarios por la gran expansión que han obtenido en esta industria, sobre todo, para las personas que padecen obesidad o diabetes *mellitus*. Como ejemplo de estos edulcorantes están la taumatina, los esteviósidos y el xilitol (Alonso, 2010).

### **2.3. Edulcorantes no nutritivos o intensos**

Los edulcorantes no nutritivos o intensos se definen como aquellas sustancias que pueden proveer un sabor dulce (Stephens-Camacho et al., 2018). Pueden ser de origen sintético de manera artificial o natural, sin valor nutritivo o reducido y con poder edulcorante desde decenas a millares de veces superiores a la sacarosa. Estas sustancias son consideradas como aditivos al suponer una carga ponderal mínima en el producto alimenticio al que son añadidas (Navarro y Cameán, 2012).

#### **2.3.1. Edulcorantes no nutritivos sintéticos o artificiales**

A continuación, se mencionarán algunos de los edulcorantes no nutritivos empleados en la industria de alimentos

### 2.3.1.1. Acesulfame K (de potasio)

El acesulfame de K (Figura 1), fue descubierto en 1967 por Karl Clauss y Jensen del laboratorio farmacéutico Hoechst. Posee una denominación química como la sal de potasio<sup>1</sup> del 3,4-dihidro-6metil-1,2,3-oxatiazin-4-ona-2-2, dióxido y tiene una fórmula química de  $C_4H_4KNO_4SK$ . Es un polvo blanco cristalino inodoro y no higroscópico. Corresponde al número de aditivo E-950. Su utilización se relaciona con su alta solubilidad en agua, buena estabilidad en solución en rangos de bebidas o frente a elevadas temperaturas de los tratamientos de confitería y pastelería (Navarro y Cameán, 2012).

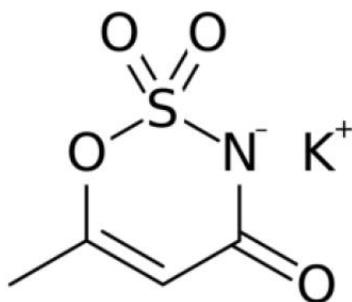


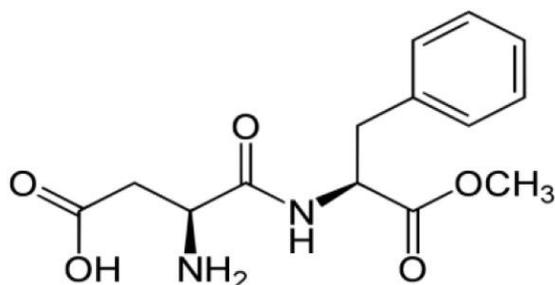
Figura 1. Acesulfame de potasio (Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018)

### 2.3.1.2. Aspartame

El aspartame (Figura 2) fue descubierto en 1965 por Schlatter y Searle. Sus aminoácidos constitutivos están presentes en las proteínas de carnes, lácteos y vegetales. Tiene denominación química como el éster 1-metílico de la N-L-a-aspartil-L-fenilalanina y tiene fórmula empírica  $C_{14}H_{18}N_2O_5$ . Es un polvo blanco cristalino e inodoro poco soluble en agua. Su empleo se encuentra limitado por su baja solubilidad y por su inestabilidad en condiciones alcalinas o neutras y a altas temperaturas. Adicionalmente, aparte de su aporte adicional de fenolftaleína libre, es no apto para fenilcetonúricos (Navarro y Cameán, 2012).

---

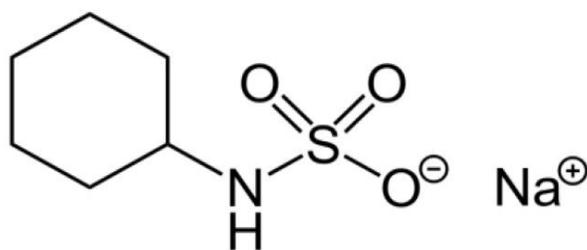
<sup>1</sup> Los españoles han decidido cambiar las valencias del sodio, el potasio, el calcio, el magnesio y hasta del ión amonio usando la terminación -ico para ellos cuando químicamente no corresponde (nota de la asesora)



**Figura 2.** Aspartame (Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018)

### 2.3.1.3. Ciclamato de sodio

El ciclamato (Figura 3) fue descubierto en 1937 por Sveda, tiene una denominación química de la sal de sodio del ácido ciclohexil-amino sulfónico y una fórmula química de  $C_8H_{13}NO_3S$ . Es un polvo blanco cristalino inodoro y muy estable en almacenamiento. Corresponde en Europa al número de aditivo E-952. Es ampliamente utilizado por su elevada solubilidad en agua y por su estabilidad en soluciones en un amplio rango de pH a temperaturas elevadas (Navarro y Cameán, 2012).



**Figura 3.** Ciclamato de sodio (Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018)

### 2.3.1.4. Sacarina

La sacarina (Figura 4) es considerado el primer edulcorante intenso no nutritivo el cual fue fabricado en 1879. Tiene una denominación química de 3-oxo-2,3-dihidrobenzol(s)isotiazol-1,1-dióxido. Su fórmula empírica es  $C_7H_5NO_3S$ . Es un polvo blanco cristalino no anhidro, no higroscópico y poco hidrosoluble. Su número

de aditivo en Europa corresponde al E-954 y es el edulcorante artificial más empleado por su alta estabilidad y bajo costo (Navarro y Cameán, 2012).

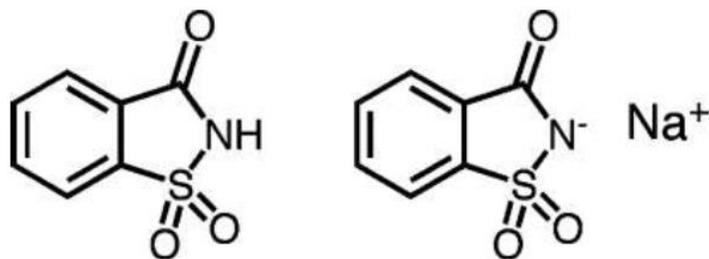


Figura 4. Sacarina (Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018)

### 2.3.2. Edulcorantes no nutritivos de origen natural

*De naturaleza glicosídica*

#### 2.3.2.1. Estevia

El aislamiento de la estevia (Figura 5) se dio en 1937 por Bridel y Lavieille a partir de la disolución alcohólica de las hojas de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni. Es un polvo blanco cristalino higroscópico con buena estabilidad en disolución frente al calor y a valores de pH menores o iguales a 4. Generalmente se utiliza en combinación con edulcorantes nutritivos y no nutritivos (Navarro y Cameán, 2012).

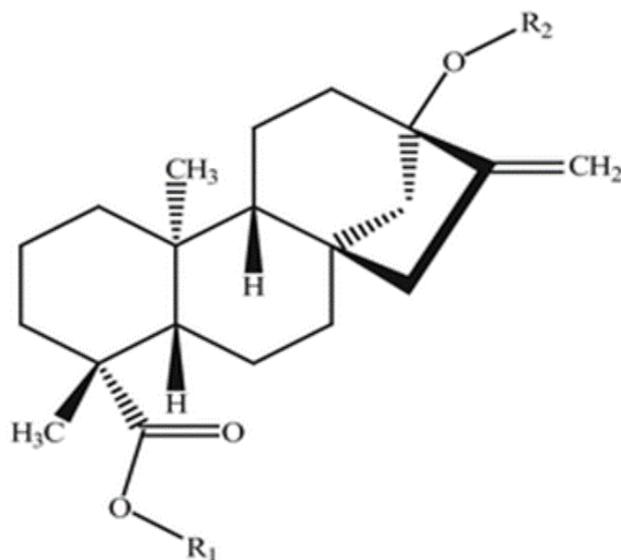


Figura 5. Fórmula molecular, masas moleculares, estructuras y poder edulcorante de los derivados de la

estevia (Ver Tabla abajo incluida en la referencia modificada de Sylvetsky et al., 2018)

EDULCORANTE	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	FÓRMULA MOLECULAR	MASA MOLECULAR	POTENCIA DE DULZURA
Rebaudiósido A	Glcβ <sub>1</sub> -	Glcβ <sub>(1-2)</sub> [Glcβ <sub>(1-3)</sub> ]Glcβ <sub>1</sub> -	C <sub>44</sub> H <sub>20</sub> O <sub>23</sub>	957.01	200
Rebaudiósido B	H	Glcβ <sub>(1-2)</sub> [Glcβ <sub>(1-3)</sub> ]Glcβ <sub>1</sub> -	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>18</sub>	804.88	150
Rebaudiósido C	Glcβ <sub>1</sub> -	Rhaα <sub>(1-2)</sub> [Glcβ <sub>(1-3)</sub> ]Glcβ <sub>1</sub> -	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>22</sub>	951.01	30
Rebaudiósido D	Glcβ <sub>(1-2)</sub> Glcβ <sub>1</sub> -	Glcβ <sub>(1-2)</sub> [Glcβ <sub>(1-3)</sub> ]Glcβ <sub>1</sub> -	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>28</sub>	1129.15	221
Rebaudiósido E	Glcβ <sub>(1-2)</sub> Glcβ <sub>1</sub> -	Glcβ <sub>(1-2)</sub> Glcβ <sub>1</sub> -	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>23</sub>	967.01	174
Rebaudiósido F	Glcβ <sub>1</sub> -	Xylβ <sub>(1-2)</sub> [Glcβ <sub>(1-3)</sub> ]Glcβ <sub>1</sub> -	C <sub>43</sub> H <sub>68</sub> O <sub>22</sub>	936.99	200
Esteviósido	Glcβ <sub>1</sub> -	Glcβ <sub>(1-2)</sub> Glcβ <sub>1</sub> -	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>18</sub>	804.88	210
Rebaudiósido	Glcβ <sub>1</sub> -	Glcβ <sub>1</sub> -	C <sub>32</sub> H <sub>50</sub> O <sub>13</sub>	642.73	114
Dulcósido A	Glcβ <sub>1</sub> -	Rhaα <sub>(1-2)</sub> Glcβ <sub>1</sub> -	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>17</sub>	788.87	30
Glc= Glucosa      Rha= Ramnosa      Xyl= Xilosa					

### 2.3.2.2 Glicirricina

La glicirricina (Figura 6) es una sustancia dulce obtenida del rizoma del regaliz (*Glucirrizia glabra* L.).

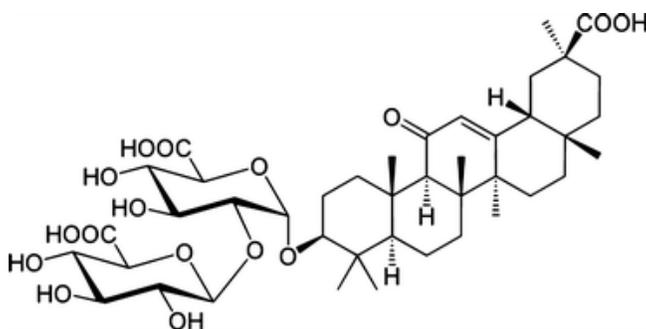


Figura 6. Glicirricina (Sylvetsky et al., 2018)

Se extrae desde el rizoma en forma de sal amoniacal, constituyendo el glicirricinato de amonio<sup>2</sup>. Es un polvo pardo, soluble en agua, estable hasta los

<sup>2</sup> Los españoles han decidido cambiar las valencias del sodio, el potasio, el calcio, el magnesio y hasta del ión amonio usando la terminación -ico para ellos cuando químicamente no corresponde (nota de la asesora)

105°C y a valores de pH mayores de 4.5. Su principal uso no es como edulcorante por su resabio mentolado. Sin embargo, es ampliamente utilizado como aromatizante o surfactante en tabaco, productos de confitería, bebidas y preparaciones farmacéuticas; además de ser una sustancia de alto costo (Navarro y Cameán, 2012).

*De naturaleza proteica*

2.3.2.3. Monelina

La monelina (Figura 7) es una proteína dulce que se obtiene de la pulpa del fruto tropical *Dioscoreophyllum cumminsii* o por clonación de un gen sintético en *Escherichia coli* y en levaduras, esta última es similar a la monelina natural pero más estable a temperatura ambiente y frente al calor. Es poco utilizada como edulcorante por su lenta percepción del sabor. De regusto dulce, muy persistente que limita su uso, además de su elevada inestabilidad y alto precio (Navarro y Cameán, 2012).

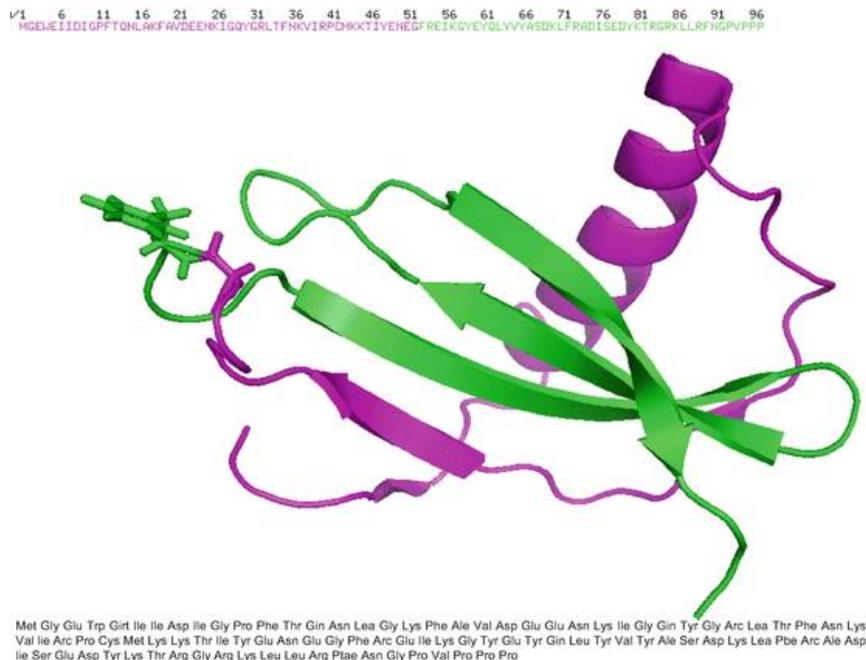


Figura 7. Representación en dibujo animado 3D de la estructura de la monelina (Sylvetsky et al., 2018)

### 2.3.2.4. Taumatinas (I y II)

Las taumatinas (Figura 8) fueron aisladas por Van der Weel en 1972 mediante una extracción acuosa del fruto de la planta africana *Thaumatococcus daniellii* que se constituye casi totalmente de las proteínas taumatina I y II. Tienen estabilidad variable en disolución y se desnaturaliza por calor a un pH de 5.5. Son considerados como el edulcorante natural E-957 para edulcorar bebidas y postres (Navarro y Cameán, 2012).

REFERENCIA		1	95
Taumatina II	Edens et al., 1982 (1)	AAAGCGCAGCCTCAATTGGCATCATACATCA	ATGGCCGCCACCAGCTGCTTCTTCTCTCTTCCDCCTTCCTCTCTCTCACGCTCTCCCGGG
Taumatina I	Ide et al., 2007 (1)	-----	ATGGCCGCCACCAGCTGCTTCTTCTCTCTTCCDCCTTCCTCTCTCTCACGCTCTCCCGGG
Taumatina I	Kaneko et al., 2001 (1)	-----	ATGGCCGCCACCAGCTGCTTCTTCTCTCTTCCDCCTTCCTCTCTCTCACGCTCTCCCGGG
		96	190
Taumatina II	Edens et al., 1982 (96)	CTGGCACCTTCGAGATCGTCAACCGCTGCTCCTACACCGTGTGGCGGGCGGCTCCAAAGGCGAGCGCCCTGGACGCGCGGGCCGCGCAGCTC	CTGGCACCTTCGAGATCGTCAACCGCTGCTCCTACACCGTGTGGCGGGCGGCTCCAAAGGCGAGCGCCCTGGACGCGCGGGCCGCGCAGCTC
Taumatina I	Ide et al., 2007 (65)	CTGGCACCTTCGAGATCGTCAACCGCTGCTCCTACACCGTGTGGCGGGCGGCTCCAAAGGCGAGCGCCCTGGACGCGCGGGCCGCGCAGCTC	CTGGCACCTTCGAGATCGTCAACCGCTGCTCCTACACCGTGTGGCGGGCGGCTCCAAAGGCGAGCGCCCTGGACGCGCGGGCCGCGCAGCTC
Taumatina I	Kaneko et al., 2001 (1)	CTGGCACCTTCGAGATCGTCAACCGCTGCTCCTACACCGTGTGGCGGGCGGCTCCAAAGGCGAGCGCCCTGGACGCGCGGGCCGCGCAGCTC	CTGGCACCTTCGAGATCGTCAACCGCTGCTCCTACACCGTGTGGCGGGCGGCTCCAAAGGCGAGCGCCCTGGACGCGCGGGCCGCGCAGCTC
		191	285
Taumatina II	Edens et al., 1982 (191)	AACTCGGGAGAGTCTCGACCATCAACGTAGAACCCGGCACCAAAGGGTGGCAAAATCTGGGCCCGCACCAGCTGCTATTTCGACGACAGCGCG	AACTCGGGAGAGTCTCGACCATCAACGTAGAACCCGGCACCAAAGGGTGGCAAAATCTGGGCCCGCACCAGCTGCTATTTCGACGACAGCGCG
Taumatina I	Ide et al., 2007 (160)	AACTCGGGAGAGTCTCGACCATCAACGTAGAACCCGGCACCAAAGGGTGGCAAAATCTGGGCCCGCACCAGCTGCTATTTCGACGACAGCGCG	AACTCGGGAGAGTCTCGACCATCAACGTAGAACCCGGCACCAAAGGGTGGCAAAATCTGGGCCCGCACCAGCTGCTATTTCGACGACAGCGCG
Taumatina I	Kaneko et al., 2001 (94)	AACTCGGGAGAGTCTCGACCATCAACGTAGAACCCGGCACCAAAGGGTGGCAAAATCTGGGCCCGCACCAGCTGCTATTTCGACGACAGCGCG	AACTCGGGAGAGTCTCGACCATCAACGTAGAACCCGGCACCAAAGGGTGGCAAAATCTGGGCCCGCACCAGCTGCTATTTCGACGACAGCGCG
		286	380
Taumatina II	Edens et al., 1982 (286)	DGGCATCTGCAGACCCAGTGGGACTGCGGGCGGCTCCTCCGTGCAAGCGCTTGGCCGGCCGCCACCACCGTGGCGGAGTTCTCGCTCAA	DGGCATCTGCAGACCCAGTGGGACTGCGGGCGGCTCCTCCGTGCAAGCGCTTGGCCGGCCGCCACCACCAGTGGCGGAGTTCTCGCTCAA
Taumatina I	Ide et al., 2007 (255)	DGGCATCTGCAGACCCAGTGGGACTGCGGGCGGCTCCTCCGTGCAAGCGCTTGGCCGGCCGCCACCACCAGTGGCGGAGTTCTCGCTCAA	DGGCATCTGCAGACCCAGTGGGACTGCGGGCGGCTCCTCCGTGCAAGCGCTTGGCCGGCCGCCACCACCAGTGGCGGAGTTCTCGCTCAA
Taumatina I	Kaneko et al., 2001 (189)	DGGCATCTGCAGACCCAGTGGGACTGCGGGCGGCTCCTCCGTGCAAGCGCTTGGCCGGCCGCCACCACCAGTGGCGGAGTTCTCGCTCAA	DGGCATCTGCAGACCCAGTGGGACTGCGGGCGGCTCCTCCGTGCAAGCGCTTGGCCGGCCGCCACCACCAGTGGCGGAGTTCTCGCTCAA
		381	475
Taumatina II	Edens et al., 1982 (381)	AGGGCAAGGACTACATCGACATCTCCAACATCAAAGGCTTCAACGTGGCGATGGACTTCAGCCCGACACCGCGGCTGCGCGGGGTGCGGTGG	AGGGCAAGGACTACATCGACATCTCCAACATCAAAGGCTTCAACGTGGCGATGGACTTCAGCCCGACACCGCGGCTGCGCGGGGTGCGGTGG
Taumatina I	Ide et al., 2007 (350)	AGGGCAAGGACTACATCGACATCTCCAACATCAAAGGCTTCAACGTGGCGATGGACTTCAGCCCGACACCGCGGCTGCGCGGGGTGCGGTGG	AGGGCAAGGACTACATCGACATCTCCAACATCAAAGGCTTCAACGTGGCGATGGACTTCAGCCCGACACCGCGGCTGCGCGGGGTGCGGTGG
Taumatina I	Kaneko et al., 2001 (284)	AGGGCAAGGACTACATCGACATCTCCAACATCAAAGGCTTCAACGTGGCGATGGACTTCAGCCCGACACCGCGGCTGCGCGGGGTGCGGTGG	AGGGCAAGGACTACATCGACATCTCCAACATCAAAGGCTTCAACGTGGCGATGGACTTCAGCCCGACACCGCGGCTGCGCGGGGTGCGGTGG
		476	570
Taumatina II	Edens et al., 1982 (476)	GGCGCCGACATCGTGGGGCAGTGGCCGGCGAAGCTGAAAGGCGCGGGGGTGGTGGCAAGATGGTGCACCGTGTCCAGACGAGCGGAGTACTG	GGCGCCGACATCGTGGGGCAGTGGCCGGCGAAGCTGAAAGGCGCGGGGGTGGTGGCAAGATGGTGCACCGTGTCCAGACGAGCGGAGTACTG
Taumatina I	Ide et al., 2007 (445)	GGCGCCGACATCGTGGGGCAGTGGCCGGCGAAGCTGAAAGGCGCGGGGGTGGTGGCAAGATGGTGCACCGTGTCCAGACGAGCGGAGTACTG	GGCGCCGACATCGTGGGGCAGTGGCCGGCGAAGCTGAAAGGCGCGGGGGTGGTGGCAAGATGGTGCACCGTGTCCAGACGAGCGGAGTACTG
Taumatina I	Kaneko et al., 2001 (379)	GGCGCCGACATCGTGGGGCAGTGGCCGGCGAAGCTGAAAGGCGCGGGGGTGGTGGCAAGATGGTGCACCGTGTCCAGACGAGCGGAGTACTG	GGCGCCGACATCGTGGGGCAGTGGCCGGCGAAGCTGAAAGGCGCGGGGGTGGTGGCAAGATGGTGCACCGTGTCCAGACGAGCGGAGTACTG
		571	665
Taumatina II	Edens et al., 1982 (571)	CTGCACCACGGGAAAGTGGCGGGCGACGGAGTACTCGCGCTTCTTCAAGAGGCTTGGCCGGACGGGTTCAAGTTATGCTGGACAAAGCCAAACA	CTGCACCACGGGAAAGTGGCGGGCGACGGAGTACTCGCGCTTCTTCAAGAGGCTTGGCCGGACGGGTTCAAGTTATGCTGGACAAAGCCAAACA
Taumatina I	Ide et al., 2007 (540)	CTGCACCACGGGAAAGTGGCGGGCGACGGAGTACTCGCGCTTCTTCAAGAGGCTTGGCCGGACGGGTTCAAGTTATGCTGGACAAAGCCAAACA	CTGCACCACGGGAAAGTGGCGGGCGACGGAGTACTCGCGCTTCTTCAAGAGGCTTGGCCGGACGGGTTCAAGTTATGCTGGACAAAGCCAAACA
Taumatina I	Kaneko et al., 2001 (474)	CTGCACCACGGGAAAGTGGCGGGCGACGGAGTACTCGCGCTTCTTCAAGAGGCTTGGCCGGACGGGTTCAAGTTATGCTGGACAAAGCCAAACA	CTGCACCACGGGAAAGTGGCGGGCGACGGAGTACTCGCGCTTCTTCAAGAGGCTTGGCCGGACGGGTTCAAGTTATGCTGGACAAAGCCAAACA
		666	760
Taumatina II	Edens et al., 1982 (666)	CGGTCACTGCCCCGGCAGCTCCAACCTACAGGGTCACTTTCTGCCCTACTGCCCTTGAAGTGAAGACGATGAAGGATGAAGACGGACACTGA	CGGTCACTGCCCCGGCAGCTCCAACCTACAGGGTCACTTTCTGCCCTACTGCCCTTGAAGTGAAGACGATGAAGGATGAAGACGGACACTGA
Taumatina I	Ide et al., 2007 (635)	CGGTCACTGCCCCGGCAGCTCCAACCTACAGGGTCACTTTCTGCCCTACTGCCCTTGAAGTGAAGACGATGAAGGATGAAGACGGACACTGA	CGGTCACTGCCCCGGCAGCTCCAACCTACAGGGTCACTTTCTGCCCTACTGCCCTTGAAGTGAAGACGATGAAGGATGAAGACGGACACTGA
Taumatina I	Kaneko et al., 2001 (569)	CGGTCACTGCCCCGGCAGCTCCAACCTACAGGGTCACTTTCTGCCCTACTGCCCTTGAAGTGAAGACGATGAAGGATGAAGACGGACACTGA	CGGTCACTGCCCCGGCAGCTCCAACCTACAGGGTCACTTTCTGCCCTACTGCCCTTGAAGTGAAGACGATGAAGGATGAAGACGGACACTGA
		761	855
Taumatina II	Edens et al., 1982 (761)	GGATACGCAATAAAGAATAAGATGATAGCAATTATATCAATAAAGGGTACTGGTTTACGTCGAGAGGCATCAGCTGGGAGGAAAAGTG	GGATACGCAATAAAGAATAAGATGATAGCAATTATATCAATAAAGGGTACTGGTTTACGTCGAGAGGCATCAGCTGGGAGGAAAAGTG
		856	
Taumatina II	Edens et al., 1982 (856)	TTATAAATATGTGTGGGGTGGCTAATTAACCTGTAAAATATAAATAAAGTTCTCCGTTTGGAGGTGTGC	

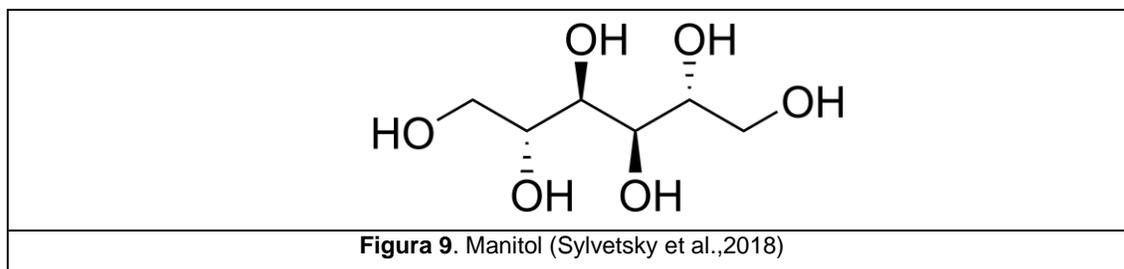
**Figura 8.** Secuencias de nucleótidos de Taumatina I y II a partir de datos de diferentes autores (Modificado de Sylvetsky et al., 2018)

### 2.3.3. Polioles o polialcoholes

De origen natural o semisintético, con valor nutritivo y bajo poder edulcorante, inferior al de la sacarosa. Añaden al producto alimenticio textura, volumen o cuerpo. Entre ellos destacan el manitol y el xilitol (Navarro y Cameán, 2012).

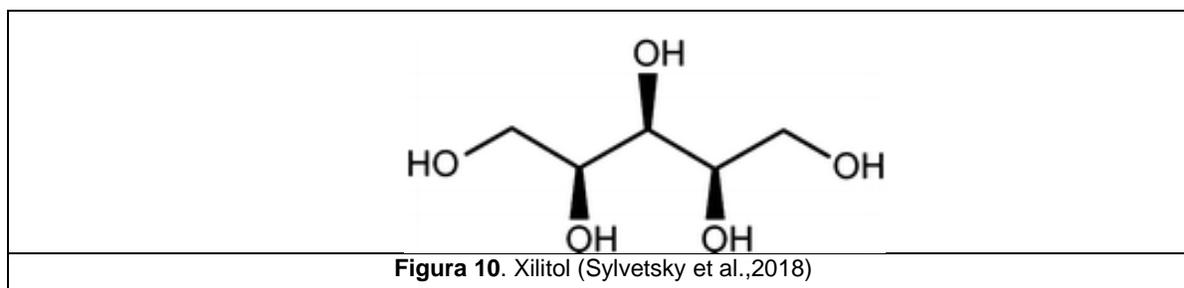
### 2.3.3.1. Manitol

Este glúcido (Figura 9) en la naturaleza se encuentra en algunas verduras, frutas, exudados de árboles, ciertos hongos y algas. Artificialmente se fabrica por hidrogenación de la fructosa. Es un isómero del sorbitol. Tiene una denominación química de *D*-manitol y una fórmula empírica de  $C_6H_{14}O_6$ . Es un polvo cristalino, inodoro, blanco, de baja higroscopicidad, de sabor dulce y solubilidad intermedia en agua; muy estable químicamente y al calor; corresponde al número E-421. Presenta un bajo poder refrescante y es utilizado para la elaboración de chicles y de fármacos masticables (Navarro y Cameán, 2012).



### 2.3.3.2. Xilitol

El xilitol (Figura 10) se encuentra presente en frutas como son las fresas y ciruelas.



En hortalizas como la coliflor y también es considerado como un metabolito endógeno hepático. Se fabrica industrialmente mediante la hidrogenación de la *D*-xilosa. Obtenida por hidrólisis del xilano. Posee una denominación química de *D*-xilitol y su fórmula empírica es de  $C_5H_{12}O_5$ . Es un polvo casi inodoro, blanco, cristalino, de sabor dulce, poco higroscópico y muy soluble en agua. Posee una

estabilidad intermedia a tratamientos térmicos. Su principal uso es como excipiente en medicamentos para diabéticos y en formulaciones contra las caries. También se usa en productos de confitería y chicles (Navarro y Cameán, 2012).

## **2.4. Anatomía e histología de los tejidos**

Con base en el objetivo de esta investigación y tomando en consideración que la histología es una rama de la medicina que requiere del conocimiento de la citomorfología de los tejidos y, por ende, de los órganos (Ponce, 2016), se realizó la investigación de la anatomía general de los mismos con la finalidad de comprender los resultados histológicos expresados por los autores.

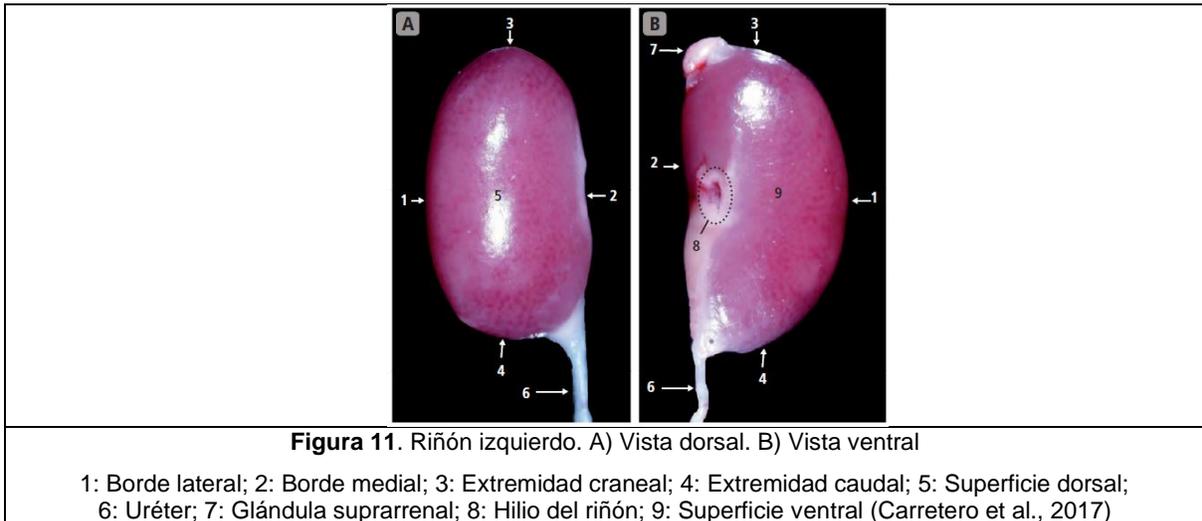
El primer órgano que se expondrá a continuación será el formado por los riñones. Este órgano, que posee un complejo sistema de filtración y que a su vez se compone de múltiples secciones, se describirá desde la forma macroscópica hasta las partes estructurales. Posteriormente se expondrá el hígado, prosiguiendo de la misma manera, ya que es de suma importancia conocer las partes que lo componen para distinguir las diferentes venas que lo conforman y de, esta manera, determinar con precisión cuáles de ellas se pudieran ver afectadas por la exposición de los aditivos bajo estudio.

### **2.4.1. Riñones**

Esta víscera posee numerosas tareas funcionales siendo la principal la filtración del plasma sanguíneo. También realiza otras funciones bioquímicas y endocrinas de vital importancia poseyendo una de las más complejas estructuras (Sobrado-de-Vicente-Tutor y Ruiz-Gómez, 2013).

Macroscópicamente, en el cuerpo humano se visualizan dos vísceras de color pardo-rojizo y contornos lisos que se localizan en la parte posterior del peritoneo, junto a la columna vertebral, envueltos en abundante tejido fibro-adiposo.

Tienen forma de una alubia y en el centro de su borde medial cóncavo aparece una profunda depresión denominada **hilio** (Arévalo-Gómez, 2008). En la Figura 11 se observa la microscopía del riñón izquierdo de un ratón en donde son descritas las principales partes que lo conforman.



**Figura 11.** Riñón izquierdo. A) Vista dorsal. B) Vista ventral

1: Borde lateral; 2: Borde medial; 3: Extremidad craneal; 4: Extremidad caudal; 5: Superficie dorsal; 6: Uréter; 7: Glándula suprarrenal; 8: Hilio del riñón; 9: Superficie ventral (Carretero et al., 2017)

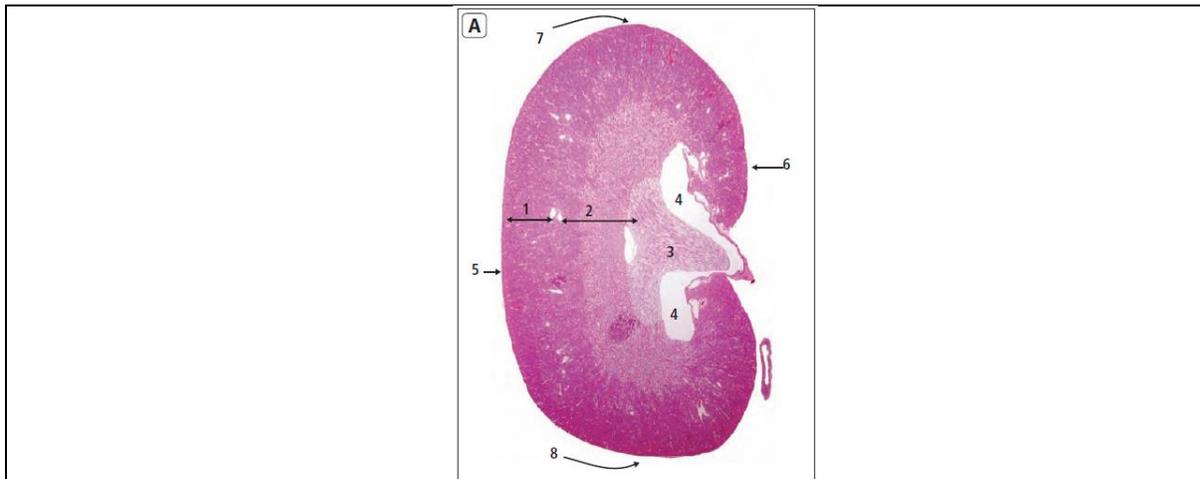
#### 2.4.1.1. Organización estructural

En el riñón, se aprecian dos zonas fácilmente distinguibles a simple vista: Una externa o corteza, de coloración rojo-pardusca, y una interna más pálida. La corteza renal forma un arco de tejido situado inmediatamente por debajo de la cápsula. De la corteza surgen proyecciones, que se sitúan entre las unidades individuales de la médula, denominadas columnas de Bertin. Asimismo, es posible observar finas estriaciones en la corteza, que discurren perpendicularmente hacia la superficie renal y que se conocen como rayos medulares (Restrepo y Parra, 2009).

**a) Hilio renal:** Se encuentra limitado por dos labios, uno anterior y otro posterior, y se continúa con una cavidad denominada seno renal, que se extiende hacia el interior. Por esta zona, discurren los grandes vasos y los nervios renales, así como el extremo terminal superior del uréter que tiene forma de embudo y que se denomina pelvis renal (Arévalo-Gómez, 2008). El seno renal se encuentra

tapizado por tejido conjuntivo de la cápsula renal y presentan numerosas proyecciones denominadas papilas renales (Arévalo-Gómez, 2008).

**b) Médula renal:** Se encuentra formada por unidades de aspecto cónico, con la base hacia la corteza, denominadas pirámides medulares (de Malpighi). Estas proyecciones, son las papilas y cada una de ellas se encuentra perforada por 10-25 orificios (área cribosa); el vértice de cada pirámide se dirige hacia el sistema calicial. En el riñón humano, existen entre 12 y 18 pirámides medulares. En la Figura 12 se observa un corte histológico horizontal del riñón en donde destaca su organización estructural (Carretero et al., 2017).



**Figura 12.** Corte histológico horizontal del riñón. Tinción de hematoxilina-eosina.

1: Corteza renal; 2: Médula renal; 3: Papila renal; 4: Pelvis renal; 5: Borde lateral; 6: Borde medial; 7: Extremidad craneal; 8: Extremidad caudal (Carretero et al., 2017)

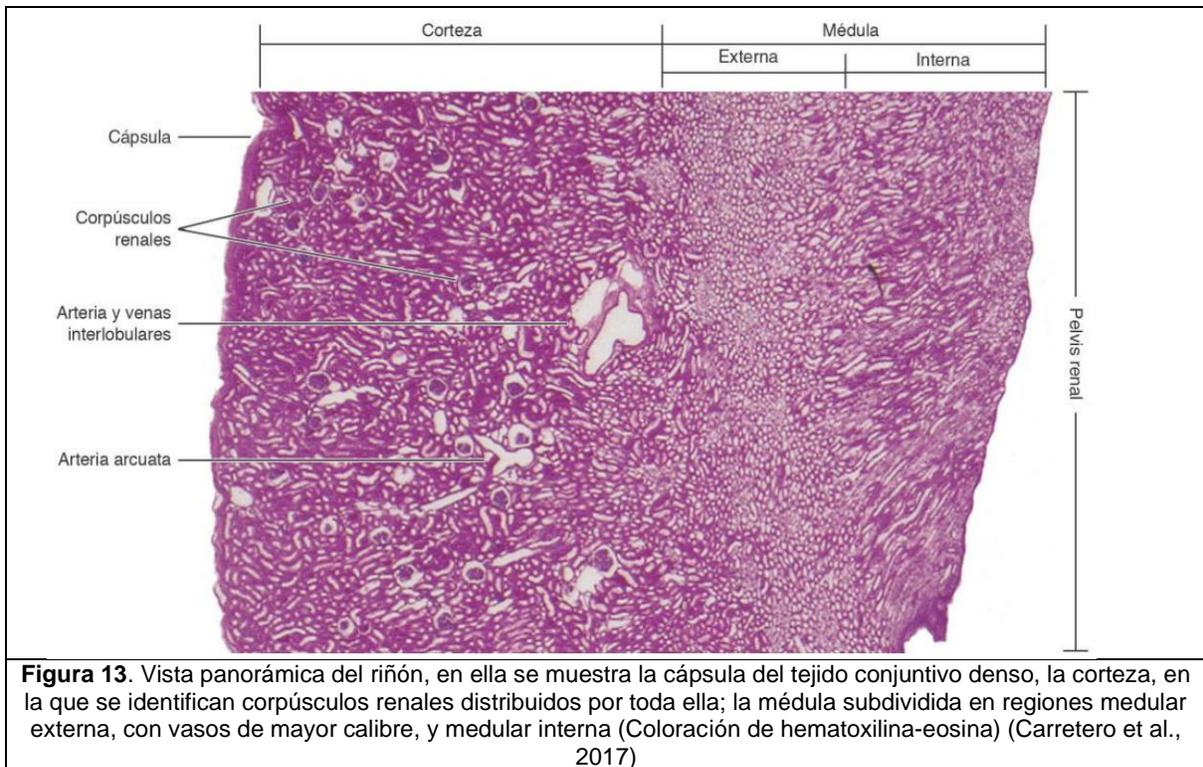
**c) Pelvis del uréter:** Se divide en dos o tres grandes ramas que se conocen como cálices mayores y, a su vez, cada uno de éstos se bifurca en varias ramas más cortas o cálices menores. Existen un total de siete a catorce cálices menores, cada uno de ellos, con su extremo dilatado y acoplado alrededor de una a tres papilas renales. En los vértices de cada papila desembocan los tubos colectores mayores que perforan tanto la papila como el extremo del cáliz correspondiente, originando el área cribosa papilar (Junqueira y Carneiro, 2015b).

**d) Fascia de Gerota:** Es la condensación de tejido conjuntivo que se divide en fascias renales anterior y posterior, que envuelven al tejido adiposo denominado grasa perirrenal. Ésta rodea la glándula suprarrenal de cada lado, y constituye, el espacio perirrenal. La fascia tiende a eliminar la propagación de infecciones renales, hemorragias y la extravasación. También otorga al riñón puntos de anclaje con las estructuras cercanas. Cada riñón se encuentra tapizado íntimamente por una delgada cápsula conjuntiva rica en fibras colágenas entre las que aparecen algunas células musculares lisas. Salvo en algunas situaciones patológicas, ésta cubierta conjuntiva puede separarse fácilmente del parénquima renal. (Vidal-Riella et al.,2015).

Se puede establecer el concepto de lóbulo renal, como la unidad morfofuncional constituida por una pirámide medular con su corteza renal asociada. Dentro de esta unidad, se encuentran los corpúsculos renales que aparecen en la corteza renal siguiendo un patrón establecido que se repite periódicamente y que se denomina lobulillo renal. Éste se encuentra constituido por la subunidad de corteza comprendida entre dos arterias interlobulillares contiguas centradas por un rayo medular que, a modo de eje, aparece surcado por un conducto colector principal que desciende verticalmente hacia las pirámides recibiendo la orina concentrada en las nefronas situadas en ambos lados del rayo medular como se observa en la Figura 13 (Carretero et al., 2017). Cada túbulo urinífero se compone de dos porciones funcionales de diferente origen embriológico, la nefrona y el túbulo colector (Vidal-Riella et al.,2015).

**e) Nefrona:** Es la unidad funcional y más importante del riñón, pues es en donde se llevan a cabo las funciones de filtración, absorción y excreción de sangre y orina. Existen aproximadamente un millón de ellas por cada riñón (Restrepo y Parra, 2009). Se encuentra formada por una parte dilatada e invaginada, la cual forma una estructura hueca de finas paredes epiteliales denominada cápsula de Bowman. La concavidad externa de dicha cápsula está ocupada por el corpúsculo renal o de Malpighi y el sistema tubular se encuentra conformado por el túbulo

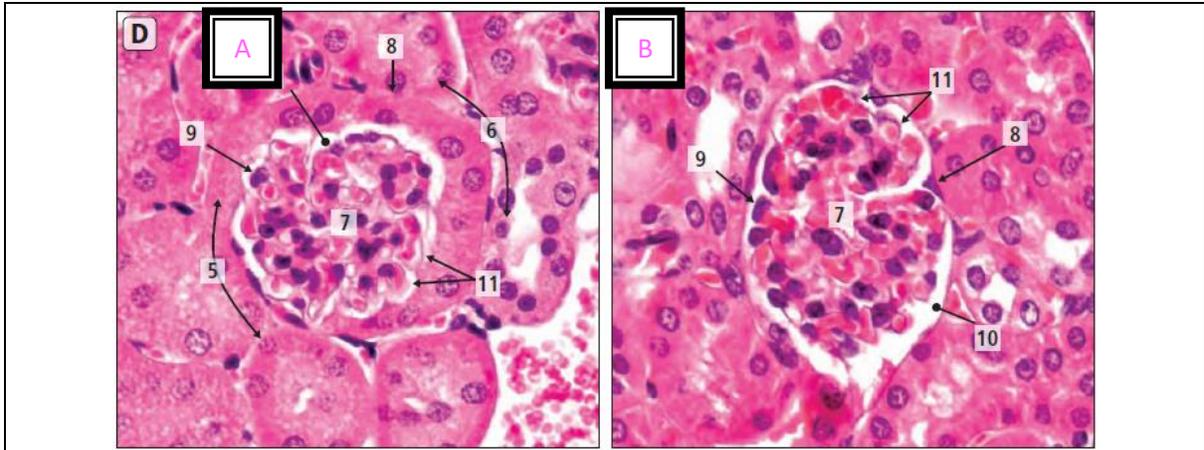
contorneado proximal, las porciones delgada y gruesa del asa de Henle y el túbulo contorneado distal (Junqueira y Carneiro, 2015b).



**f) Corpúsculos renales:** Estos corpúsculos miden cerca de 200  $\mu\text{m}$  de diámetro, y están formados por un ovillo de capilares (glomérulo) envueltos por la cápsula de Bowman y por células llamadas podocitos. A su vez, esta cápsula se conforma de dos capas; una visceral que se encuentra junto a los capilares glomerulares y otra parietal que forma los límites del corpúsculo.

El espacio entre estas dos capas se conoce como espacio capsular. Es aquí donde se recibe el líquido filtrado a través de la pared de los capilares y la capa visceral de la cápsula (Junqueira y Carneiro, 2015b).

En la Figura 14 (A y B) se observa la estructura del corpúsculo renal, así como sus partes internas.



**Figura 14.** Estructura del corpúsculo renal (400X)

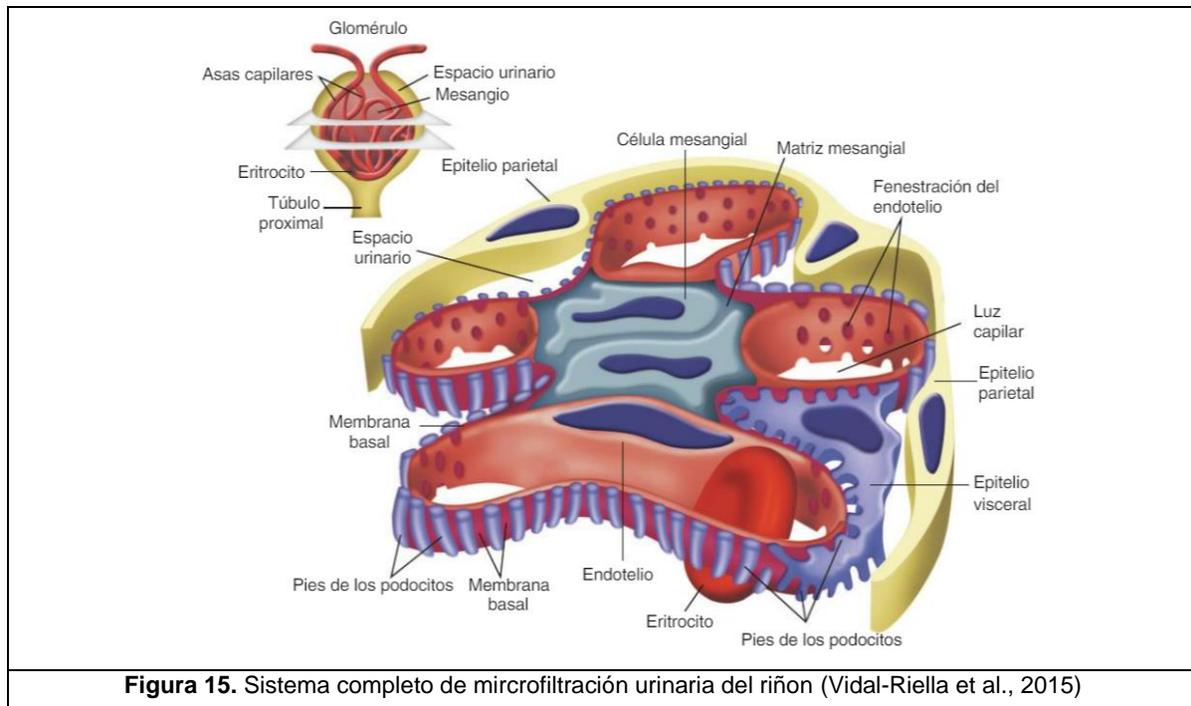
A) Corpúsculo renal masculino. Nótese el epitelio cuboidal en la capa parietal de la cápsula glomerular. Tinción de hematoxilina-eosina; B) Corpúsculo renal femenino. Nótese el epitelio escamoso en la capa parietal de la cápsula glomerular. Tinción de hematoxilina-eosina; 5: Polo vascular; 6: Polo urinario; 7: Glomérulo; 8: Capa parietal (cápsula glomerular); 9: Capa visceral (cápsula glomerular); 10: Espacio urinario; 11: Capilares glomerulares (Modificado de Navarro et al., 2017)

**g) Glomérulo:** Se encuentra formado por capilares de endotelio de aproximadamente 40 nm. Este conjunto de capilares está compuesto, por células planas que presentan aberturas sin diafragma con la finalidad de aislarlo del exterior. Su función es la de realizar la ultrafiltración de la sangre con la finalidad de controlar el equilibrio hidroelectrolítico del organismo y eliminar los productos de desecho. A este dispositivo se le conoce como **barrera de filtración glomerular** y se encuentra conformado por la pared del endotelio capilar, la membrana basal glomerular y los pedicelos de los podocitos (Sobrado-de-Vicente-Tutor y Ruiz-Gómez, 2013).

#### **h) Células mesangiales**

Son células de soporte estructural, que sugieren su participación en los mecanismos de fagocitosis de sustancias normales y patológicas. También intervienen en la modulación de la filtración glomerular al regular el flujo sanguíneo pues son contráctiles y tienen receptores para la angiotensina II (Vidal-Riella et al., 2015). La activación de estos receptores reduce el flujo sanguíneo glomerular. Asimismo, contienen receptores para la hormona natriurética, vasodilatador que relaja las células mesangiales con lo que se aumenta el volumen de sangre en los

capilares y en la superficie disponible para la filtración (Junqueira y Carneiro, 2015b). La ubicación de este componente renal se aprecia en la Figura 15.



## i) Sistema tubular

### i.1) Túbulo contorneado proximal

En el polo urinario del corpúsculo renal, la hoja parietal de la cápsula de Bowman se continúa con el epitelio simple cúbico o cilíndrico bajo del túbulo contorneado proximal. Este tubo es más largo que el distal y, por ello, sus cortes se ven con una mayor frecuencia cerca de los corpúsculos. El citoplasma basal de las células que lo constituyen son acidófilos debido a las numerosas mitocondrias alargadas mientras que el citoplasma apical, presenta microvellosidades que forman el ribete en cepillo. Éste último es difícil de distinguir al microscopio, sin embargo, este ribete se caracteriza por tener una luz amplia rodeada de capilares sanguíneos. Cuando es empleado con el microscopio óptico, es común que la luz aparezca reducida, teniéndose una mala observación del ribete en cepillo y los capilares se encuentran colapsados. Sin embargo, esto depende de la técnica histológica empleada. La función principal de esta parte de la nefrona es tomar el filtrado

glomerular donde comienza el proceso de absorción y excreción. En este segmento se absorbe la totalidad de la glucosa y de los aminoácidos que contiene el filtrado y alrededor del 70% del agua, el bicarbonato y el cloruro de sodio. También absorbe los iones de calcio y de fosfato. Cuando la cantidad de glucosa excede la capacidad de absorción de los túbulos, la orina es más abundante conteniendo glucosa en ella (Junqueira y Carneiro, 2015b).

### **i.2) Asa de Henle**

Es una estructura en forma de U, la cual se compone de un segmento delgado (12 $\mu$ m) interpuesto entre dos segmentos gruesos (60 $\mu$ m). Los segmentos gruesos poseen una estructura semejante a la del túbulo contorneado distal. Las nefronas yuxtamedulares son más largas y se extienden hasta la profundidad de la médula renal. Las nefronas corticales presentan asas de segmento delgado descendente muy corto. Participa en la retención de agua; crea un gradiente de hipertonicidad medular que influye en la concentración de orina ya que a medida que ésta pasa por los conductos colectores en el segmento grueso ascendente, el cloruro de sodio es transportado de manera activa hacia afuera del asa para establecer el gradiente necesario para concentrar la orina (Junqueira y Carneiro, 2015b).

### **i.3) Túbulo contorneado distal**

Continuando el asa de Henle, en cortes histológicos, entre los túbulos distales y proximales se distingue el túbulo contorneado distal, diferenciando sus células (mayor número de núcleos en cada corte transversal), que no presentan ribete en cepillo y son menos acidófilas, pues contienen una mayor cantidad de mitocondrias presentes en las invaginaciones de la membrana. Anatómicamente está apoyado en el corpúsculo renal de la nefrona y, en ese lugar, su pared se modifica; las células se vuelven cilíndricas, altas, con núcleos alargados y cercanos unos a otros. Este segmento se muestra oscuro en los cortes teñidos (debido a la cercanía de los núcleos de sus células), denominándose **mácula densa**, la cual, es sensible al contenido iónico y al volumen de agua del líquido

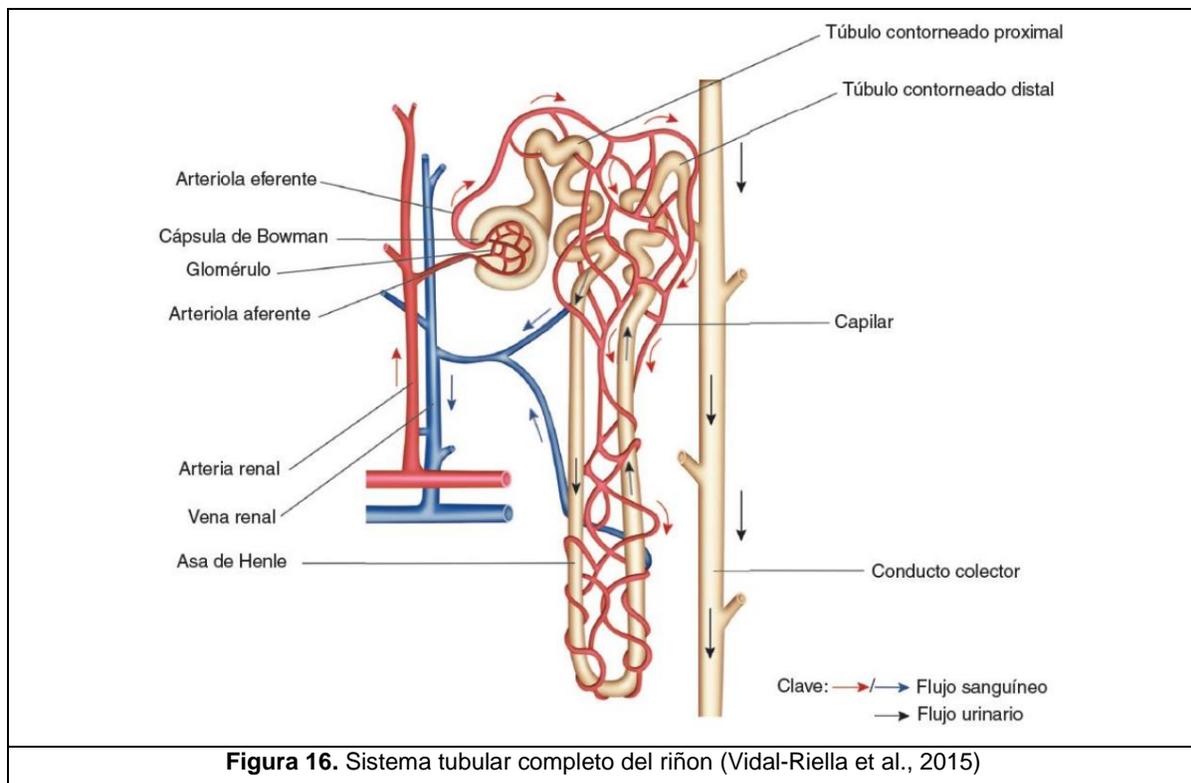
tubular. Produce moléculas señalizadoras que promueven la liberación de la enzima renina en la circulación (Junqueira y Carneiro, 2015b).

#### i.4) Túbulo de conexión

Se encuentra entre el túbulo distal y el conducto colector, al igual que en los conductos colectores, la aldosterona promueve la reabsorción del sodio y con ello, también del agua aumentando la secreción de potasio (Welsh, 2014b).

#### i.5) Túbulos y conductos recolectores

La orina pasa de los túbulos contorneados distales a los túbulos colectores los cuales, a su vez, desembocan en tubos de un mayor calibre (**conductos papilares o de Bellini**), que se abren en un cáliz menor. La región de la papila que contiene orificios de desembocadura de estos conductos colectores se les conoce como área cribosa (Ross y Wojciech, 2012b). El sistema tubular completo (inciso I) se puede observar en la Figura 16.

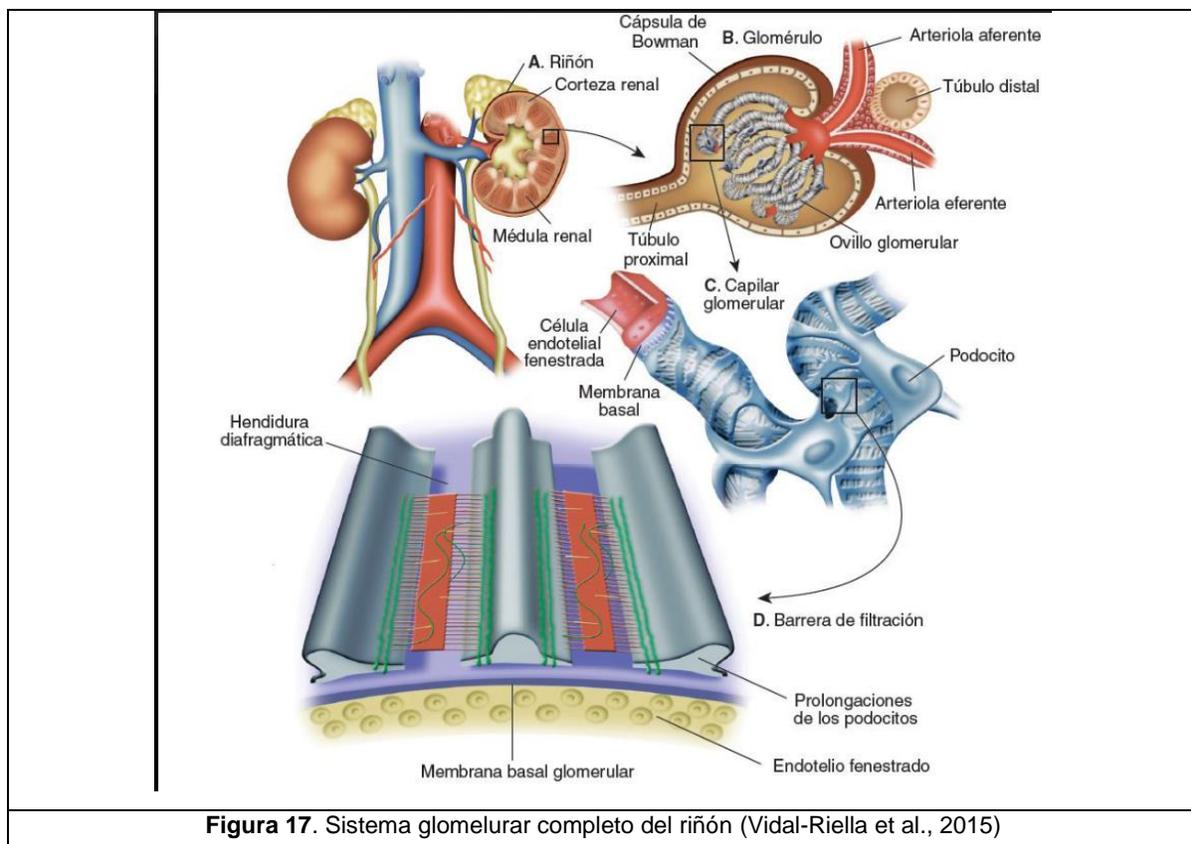


### j) Membrana basal glomerular

Esta membrana es sintetizada por las células epiteliales de la zona (podocitos y endotelio), siendo esencial para el correcto funcionamiento del filtro glomerular. Se encuentra constituida de tres capas: lámina clara interna, lámina densa y lámina clara externa. Compuestas principalmente de colágeno tipo IV, laminina, entactina (nidógeno) y proteoglicanos sulfatados. Existen enfermedades que, a causa de mutaciones en los genes que impiden la formación de colágeno IV, producen malformaciones estructurales además de problemas en la filtración y selectividad a lo largo del tiempo (Vidal-Riella et al.,2015).

### k) Células endoteliales

Estas células revisten la luz de los capilares glomerulares (Figura 17).



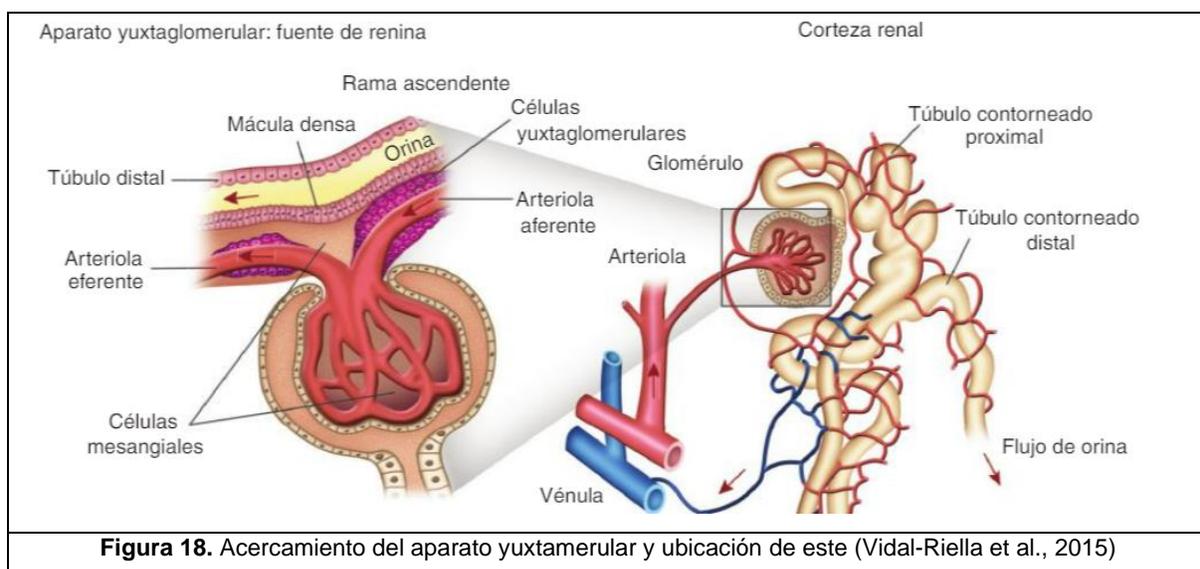
**Figura 17.** Sistema glomerular completo del riñón (Vidal-Riella et al., 2015)

El núcleo y la mayor parte del citoplasma se encuentran del lado mesangial capilar y una faja estrecha del citoplasma se extiende a lo largo de la pared capilar. Esta

faja de citoplasma es continua, pero presenta varias ventanas o poros de diámetro aproximado de entre 70 a 100 nm. Se encuentran separadas por membranas o diafragmas permeables. La carga eléctrica de la superficie de las células endoteliales glomerulares es negativa debido a que en la superficie hay una capa de glucocálix, con abundancia de glucosaminoglicanos y glucoproteínas que sintetizan las células endoteliales (Vidal-Riella et al., 2015).

### I) Aparato yuxtglomerular

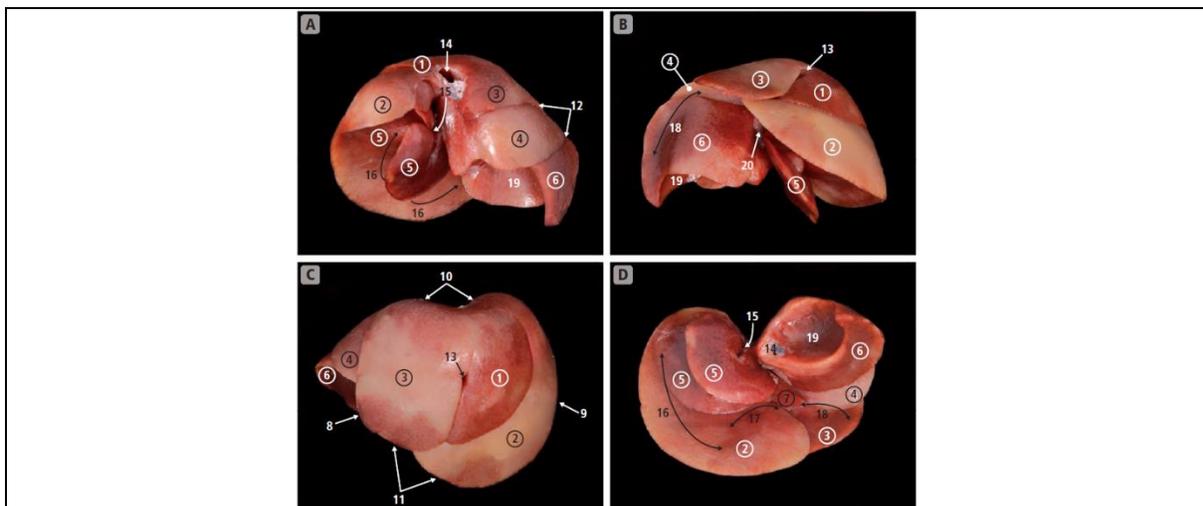
Se ubica en el hilio del glomérulo, en el cual, una parte de la nefrona distal entra en contacto con el glomérulo adyacente. Existe un componente vascular al cual se le denomina: mácula densa (Vidal-Riella et al., 2015). Se encuentra compuesta por células yuxtglomerulares que tienen características de excreción de proteínas, y que producen renina, la cual, es un iniciador de una serie de reacciones para generar angiotensina II (octopéptido), que a su vez genera la secreción de aldosterona, que tiene como principal función, la inhibición de la excreción de sodio en los riñones, por lo que juega un papel importante en el control hídrico (el agua se retiene o se elimina junto con el sodio) e iónico del medio interno del organismo (Junqueira y Carneiro, 2015). Su ubicación se puede observar en la Figura 18.



**Figura 18.** Acercamiento del aparato yuxtglomerular y ubicación de este (Vidal-Riella et al., 2015)

### 2.4.2. Hígado

Es la glándula más grande y la víscera más voluminosa del organismo. Macroscópicamente un hígado normal es de color marrón y presenta una superficie externa lisa representando aproximadamente el 2% de la masa corporal de una persona adulta (Sibulesky, 2013). Se encuentra dividido anatómicamente por surcos profundo en dos lóbulos grandes (derecho e izquierdo) y en otros dos más pequeños (lóbulo cuadrado y lóbulo caudado). En la Figura 19 se observan todos los lóbulos que se encuentran en esta víscera.



**Figura 19.** Lóbulos del hígado

Vista dorsal. B) Vista ventral. C) Vista craneal (superficie diafragmática). D) Vista caudal (superficie visceral). 1: Lóbulo medial izquierdo del hígado; 2: Lóbulo lateral izquierdo; 3: Lóbulo medial derecho; 4: Lóbulo lateral derecho; 5: Proceso papilar (lóbulo caudado); 6: Proceso caudado (lóbulo caudado); 7: Lóbulo cuadrado; 8: Borde derecho; 9: Borde izquierdo; 10: Borde dorsal; 11: Borde ventral; 12: Muecas interlobares; 13: Fosa para vesícula biliar; 14: Surco para vena cava; 15: Impresión esofágica; 16: Impresión gástrica; 17: Impresión pilórica; 18: Impresión duodenal; 19: Impresión renal; 20: Porta hepática (Navarro et al., 2017)

Esta división anatómica solo tiene importancia topográfica porque relaciona los lóbulos hepáticos con otros órganos abdominales (Ross y Wojciech, 2012a). El hígado desempeña diferentes funciones en la captación, almacenamiento y distribución de las sustancias nutritivas y las vitaminas que circulan en la sangre. Otras funciones, son las de mantener la concentración sanguínea de la glucosa (glucemia) y la de regular las concentraciones circulantes de las lipoproteínas de muy baja densidad. Su función es la de degradar fármacos y sustancias tóxicas, sin embargo, se debe de tomar en consideración, que puede sobresaturarse de

estas sustancias y sufrir graves lesiones. Realiza funciones exocrinas pues produce bilis para la generación de compuestos como sales biliares, fosfolípidos y colesterol. (Ross y Wojciech, 2012a).

#### **2.4.2.1. Organización estructural**

##### **a) Hepatocitos**

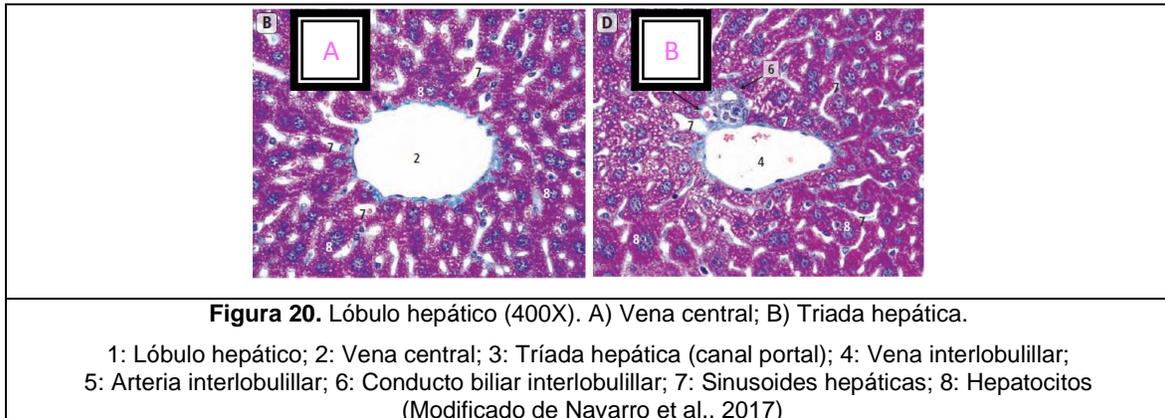
Los hepatocitos son las células encargadas de realizar las funciones de este órgano. Se encuentran en contacto con sinusoides vasculares, que absorben sustancias tóxicas y subproductos de la digestión desintoxicando y almacenando sustancias para su uso futuro (Gartner y Hiatt, 2018).

##### **b) Lobulillos hepáticos**

Existen tres diferentes maneras de describir los lobulillos: a) clásico, b) portal y c) acino hepático. El lobulillo clásico está constituido de organizaciones de hepatocitos, dispuestos como ladrillos en una pared de manera radial, conocidas como parénquimas, las cuales se encargan de las funciones del hígado (Welsh, 2014c). Las placas que existen entre ellos contienen capilares denominados sinusoides hepáticos, los cuales, reciben sangre oxigenada de las ramas de la arteria hepática y de la vena porta (Gartner y Hiatt, 2018). En medio de los lobulillos, se encuentran entre 3 y 6 espacios portales los cuales contienen una rama de la vena porta, una rama de la arteria hepática, un conducto (parte del sistema de conductos biliares) y vasos linfáticos. Estos conductos, transportan sangre de diferentes órganos periféricos al hígado, a la bilis y al tejido linfático, respectivamente (Junqueira y Carneiro, 2015a). En la Figura 20 se observa la microscopía del lóbulo hepático de un hígado humano.

Como se observa en la Figura 21 el lobulillo portal y el espacio portal se encuentran en el centro, a estos le pertenecen las partes de 3 lobulillos clásicos. Funcionalmente en el lobulillo portal, el sistema de vías biliares tiene un carácter glandular exocrino, mientras que en el acino hepático, pertenecen dos lobulillos clásicos contiguos. Su eje se encuentra formado por las ramas de la vena y la

arteria interlobulillares. Desde el punto de vista funcional, contiene sustancias nutritivas y oxígeno funcional dentro del hígado, ocurriendo en una de sus tres zonas la desintoxicación del alcohol, así como también la mayoría de los medicamentos (Welsh, 2014c).



### c) Espacios perisinusoidales (espacios de Disse)

En este espacio, se lleva a cabo el intercambio de materiales entre la sangre y los hepatocitos. Generalmente, se encuentran entre las superficies basales y de las células de Kupffer, células endoteliales que contienen macrófagos, que tapizan las sinusoides. Desde la superficie de los hepatocitos, en este espacio, se proyectan pequeñas microvellosidades irregulares, que permiten el intercambio de sustancias entre los hepatocitos y el plasma, este se drena hacia el tejido conjuntivo periportal, donde se describe un intersticio pequeño, el espacio

periportal (conocido como el espacio de Mall), entre el estroma del espacio portal y los hepatocitos más periféricos del lobulillo. Desde este sitio de recolección, el líquido se introduce a los capilares linfáticos, que transcurren junto con los componentes de la tríada portal. Las proteínas y las lipoproteínas sintetizadas en el hepatocito transfieren a la sangre a través del espacio perisinusoidal. Todas las secreciones hepáticas excepto la bilis, siguen esta vía (Ross y Wojciech, 2012a).

## **2.5. Tipos de tinciones histológicas**

Las tinciones histológicas son métodos de estudio de tejidos que, mediante una serie de pasos y la adición de colorantes, tratan a una determinada muestra para resaltarla y visualizar ya sea uno o varios de los componentes de un tejido. Todo esto con el objetivo de poder estudiar la citomorfología mediante alguna técnica microscópica (Verdín-Terán et al., 2013). A continuación, se describen algunos tipos de tinciones.

### **2.5.1. Tinciones bicrómicas**

Este tipo de tinciones son las más comunes y utilizadas por su interpretación rápida, sobre todo en los estudios histopatológicos. Como es posible observar más adelante, la tinción de hematoxilina-eosina es una de las más utilizada en los resultados de los estudios que se muestran. Esto se puede explicar porque permite tener una visión muy detallada del tejido a analizar. Generalmente con la información proporcionada por estas tinciones es suficiente para permitir un diagnóstico de enfermedad que se basa en la organización de las células y por la presencia de cualquier anomalía o indicadores particulares en las células *in vivo* (Santos-Vidal, 2017).

#### **Hematoxilina-eosina o “tinción convencional”**

Ayudan a identificar los componentes ácidos (basífilos) y los básicos (acidófilos) de las muestras. Para ello, son empleados dos colorantes (hematoxilina y eosina),

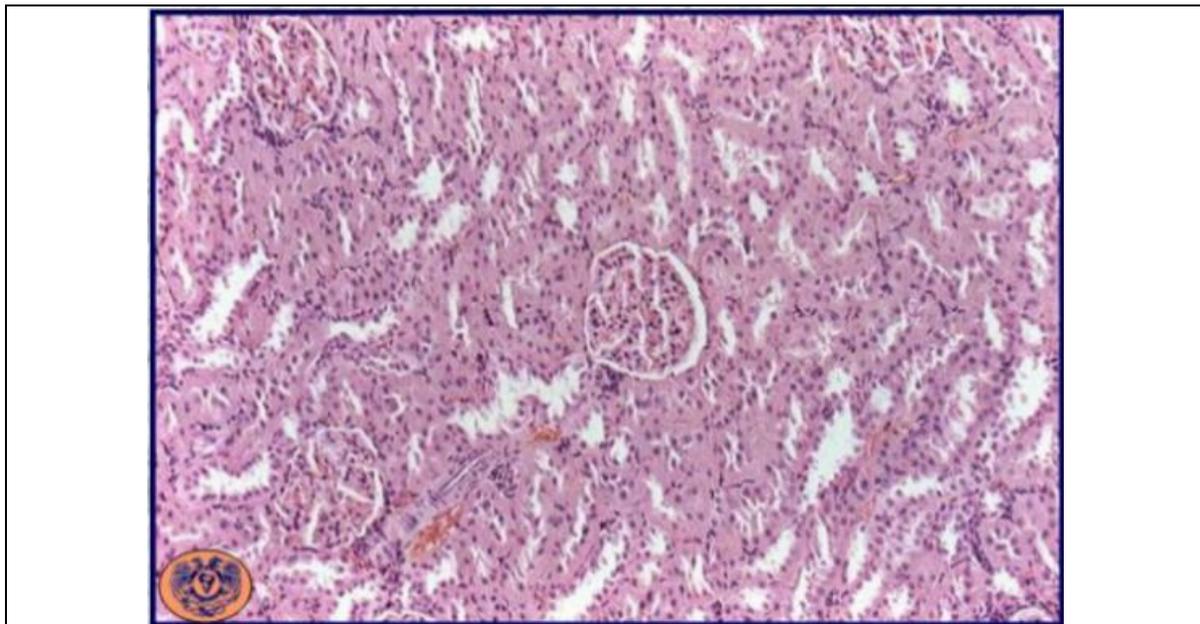
los cuales permiten diferenciar entre el núcleo y el citoplasma celular como se muestran en la Tabla 1 y Figura 22 (Guerrero-Alquicira et al., 2017).

### 2.5.2. Tinciones tricrómicas

Este tipo de tinciones ayudan a diferenciar a los tejidos básicos como son los tejidos epitelial, conjuntivo y muscular. Generalmente para este tipo de tinciones se emplean más de 2 colorantes, Por ejemplo, las tinciones de Masson y Gomori, utilizan 3 tipos de colorantes diferentes para resaltar el tejido muscular, tejido conjuntivo y el núcleo de las células presentes en el tejido como se muestra en la Tabla 2 y Figura 23 (Guerrero-Alquicira et al., 2017).

**Tabla I. Componentes tisulares y colores mostrados en la tinción de H-E**  
(Tomada de Guerrero-Alquicira et al.,2017)

Componente	Ejemplos	Colorante que captan	Color que exhiben	Término
<b>Ácido</b>	ADN, ARN	Hematoxilina	Azul-morado	Basófilo
<b>Básico</b>	Proteínas	Eosina	Rosa-naranja	Eosinófilo o acidófilo



**Figura 22.** Corte de riñón teñido con H-E. Se observan los núcleos celulares como pequeñas estructuras redondeadas y el citoplasma muestra un tinte rosado (Departamento de Biología Celular y Tisular, 2021)

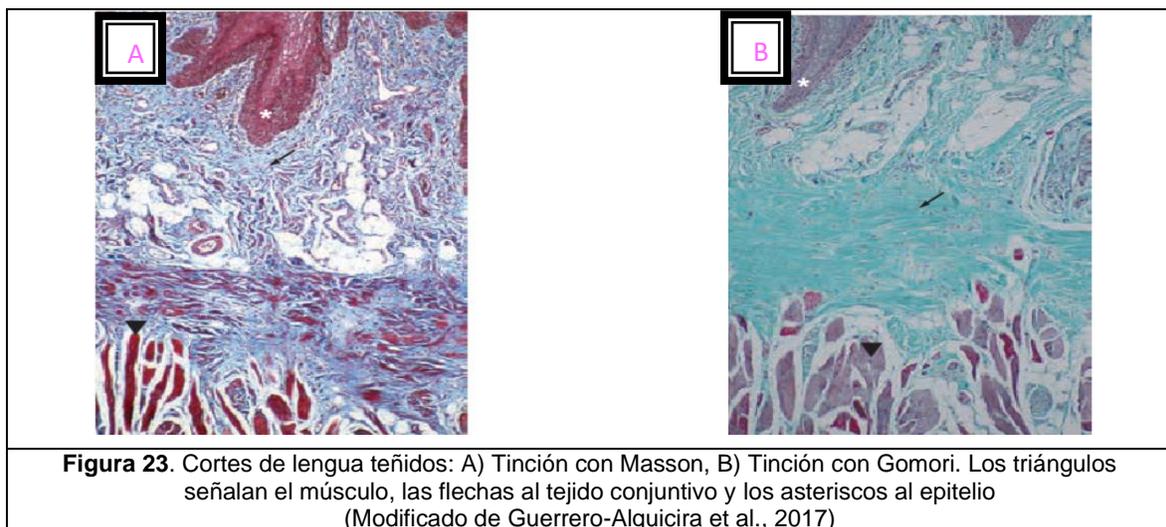
Los colorantes utilizados para la tinción de Masson son: Hematoxilina férrica, Escarlata-Fucsina Ácida y solución de verde luz al 2% (Barragán-Lizano, 2021). Mientras que para la de Gomori, se utilizan: Cromotrope 2R, verde brillante y azul de anilina (Salgado-Maldonado, 2007).

Este tipo de tinciones son útiles debido a que por sus colorantes particulares permiten teñir estructuras específicas con colores diferentes. La tinción de Masson es particularmente utilizada para biopsias de hígado, riñón y corazón donde se sospeche de alguna patología, resaltando el colágeno presente en el tejido. La tinción de Gomori resalta las fibras musculares presentes en el tejido (Meza, 2021) por lo que, aunque colorean los mismos tejidos permiten identificar de una manera más rápida y precisa diferentes tipos de células dentro del tejido sometido a un estudio histológico (Verdín-Terán et al., 2013).

**Tabla 2. Tinciones tricrómicas y colores que exhiben los componentes tisulares**

(Tomado de Guerrero-Alquicira et al., 2017)

Tipo de tinción	Componente tisular		
	Coloración en músculo	Coloración en tejido conjuntivo	Coloración en el núcleo
<b>Masson</b>	Rojo	Azul rey	Negro
<b>Gomori</b>	Rojo	Verde brillante	Negro

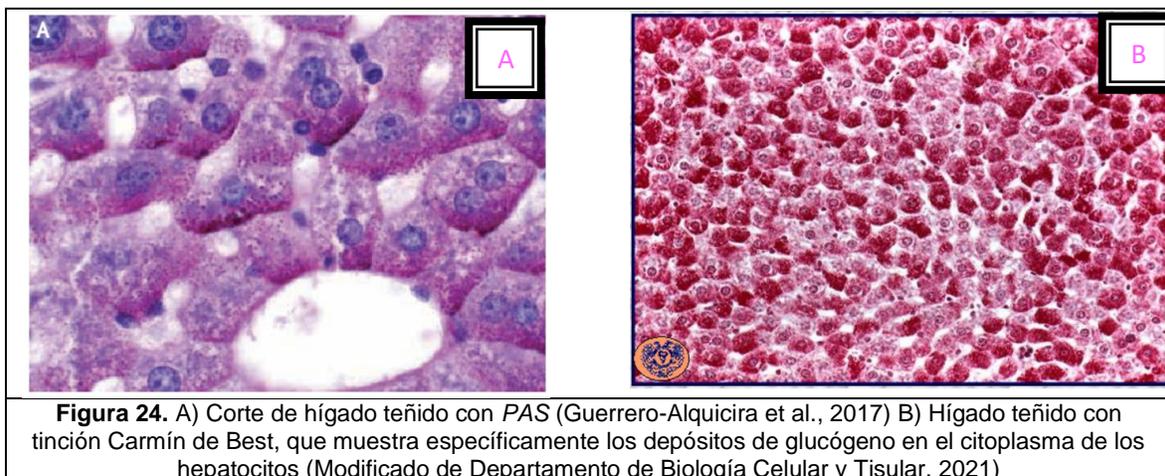


### 2.5.3. Tinciones selectivas

Este tipo de tinciones evidencian biomoléculas específicas en los tejidos o las células. Entre las tinciones selectivas mayoritariamente empleadas se tienen a las de carbohidratos, lípidos, proteínas, fibras elásticas y fibras reticulares. A continuación, se describen este tipo de tinciones selectivas:

#### a) Tinción de carbohidratos

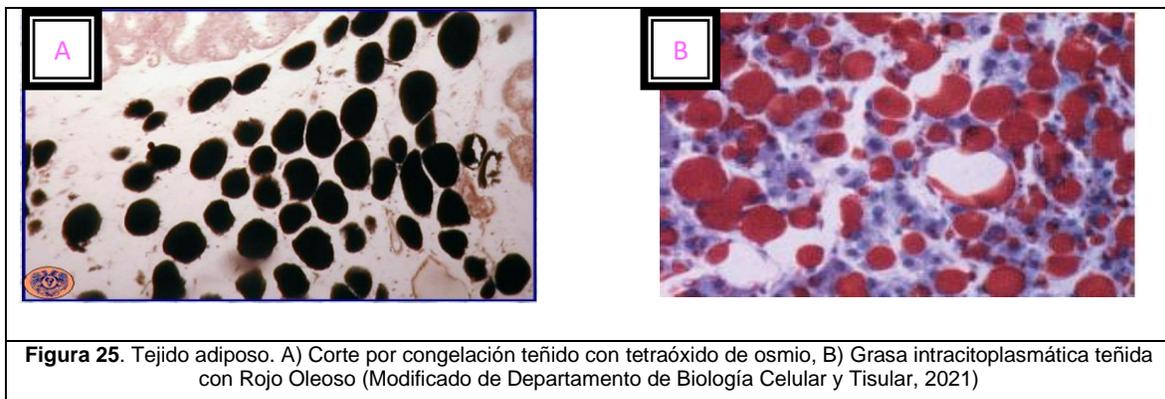
Los carbohidratos se encuentran principalmente en las proteínas de matriz extracelular de las células del tejido conectivo en diferentes órganos. Las principales proteínas en las que se encuentran son los proteoglicanos y proteínas glucosiladas. Su importancia radica en que actúan como sostén estructural de los tejidos, manteniendo su forma celular, permitiendo la comunicación entre las células y modulando su diferenciación celular (Brusco, 2014). Con estas tinciones los componentes que contienen carbohidratos adoptan una coloración magenta como se observa en la Figura 24 (Guerrero-Alquicira et al., 2017).



Para este tipo de carbohidratos se utiliza la tinción de PAS (*Periodic Acid-Schiff*, por sus siglas en inglés) la cual permite observar la citomorfología de las células de soporte del tejido. Mientras que para teñir el glucógeno presente en el citoplasma de las células se utiliza la tinción carmín de Best.

## b) Lípidos

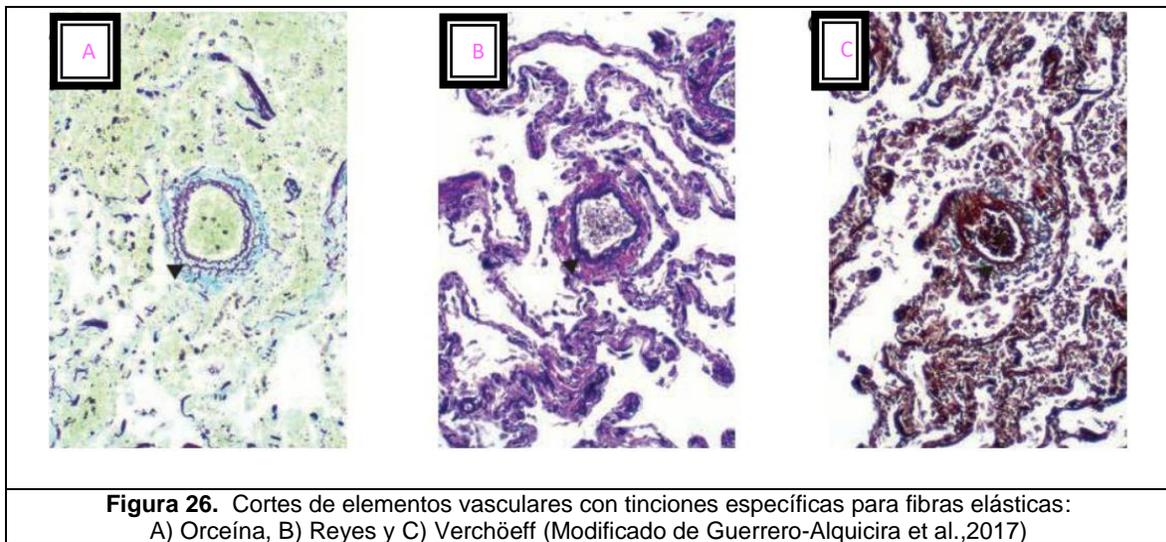
Los lípidos forman parte del tejido conectivo en el cuerpo humano. Existen dos tipos de tejido adiposo, el blanco y el café (Eroschenko, 2017). Ambos tienen una morfología diferente por lo que, para ser observados dentro de una tinción, se utiliza una técnica diferente para cada uno de ellos. Cabe mencionar que al ser una biomolécula que se disuelve con técnicas histológicas ordinarias, este tejido requiere de sustancias de tinción especiales. Como se observa en la Figura 25 A) el tejido adiposo **blanco** se observa en su totalidad en células largas, semi-ovaladas y unicelulares; todas ellas teñidas con tetraóxido de ósmio. Este tipo de tejido adiposo es el más común dentro del cuerpo. Por otro lado, en la Figura 25 B) se observa el tejido adiposo **café o pardo** teñido con Rojo Oleoso que, al igual que el tetraóxido de ósmio, es un lipófilo que permite observar las células como numerosas “gotitas” de lípidos. Este tipo de tejido adiposo es menos abundante que el tejido adiposo blanco del que se hizo mención anteriormente (Guerrero-Alquicira et al.,2017).



## c) Proteínas

Para el caso de las proteínas, dependiendo de la fibra que compone la proteína así será el tipo de tinción empleado, ya que van a teñir de diferente manera el compuesto de interés dependiendo si se tratan de fibras elásticas o de fibras reticulares como se mencionan a continuación:

**d) Fibras elásticas:** Son fibras delgadas, pequeñas y ramificadas capaces de estirarse y volver a su longitud original. Tienen menos resistencia a la tracción que las fibras de colágeno y están compuestas de microfibrillas y de la proteína conocida como elastina. Cuando se estiran, las fibras elásticas vuelven a su tamaño original sin deformación. Se encuentran en abundancia en los pulmones, la pared de la vejiga y la piel. También están en las paredes de la aorta y del tronco pulmonar, permitiendo que los vasos presentes en estos tejidos se estiren y retrocedan durante las potentes eyecciones de sangre de los ventrículos cardíacos. En las paredes de los grandes vasos, las células del músculo liso sintetizan las fibras elásticas y en otros órganos, los fibroblastos sintetizan estas fibras (Eroschenko, 2017). Para poder estudiar este tipo de fibras se emplean diferentes técnicas de tinción como son la Tinción de Reyes (rosa-magenta), la Tinción de Orceína (morado intenso) y la tinción de Verchöeff (café oscuro), las cuales son empleadas para hacer notorio este componente tisular como se aprecian en la Figura 26 (Guerrero-Alquicira et al.,2017).



**e) Fibras reticulares:** Estas forman parte del tejido conectivo de diferentes órganos. Consisten principalmente en colágeno tipo III (o reticulina). Son de apariencia delgada y forman un marco de soporte en forma de red delicada en el hígado, los ganglios linfáticos, el bazo, los órganos hematopoyéticos y otros lugares donde se filtran la sangre y la linfa (Eroschenko, 2017). Estas fibras se

vuelven visibles solamente cuando el tejido u órgano se tiñe con tinción de plata la cual recibe el nombre de tinción de Wilder por la impregnación del metal en el componente. Mediante esta técnica las fibras se ven en una coloración negra como se aprecia en la Figura 27 de manera detallada y completa, pudiéndose observar cualquier alteración en estos órganos (Guerrero-Alquicira et al., 2017).



Es importante mencionar que para el estudio de tejidos se encuentran técnicas complementarias a ésta donde se utilizan microscopios especiales. Cada uno de ellos aporta información diferente pero parcial sobre las características de la muestra, por lo que, en muchos casos, es interesante la utilización de diferentes tipos de microscopios para lograr un conocimiento más completo de las estructuras de los tejidos. Por mencionar algunas de estas metodologías complementarias a la microscopía óptica, se pueden destacar las siguientes: Microscopio de campo oscuro, microscopio de contraste de fases, microscopio de interferencia, microscopio de interpolación, microscopio de fluorescencia, etc. (Montuenga-Badía et al., 2014).

Además del tipo de microscopía utilizada se debe considerar la tinción que se utilizará para el estudio histológico. Existen diferentes tipos de tinciones y entre las más utilizadas se encuentran: Hematoxilina-eosina, Tricromos, Giemsa, Papanicolau e Impregnaciones Argénticas. En concreto, para los tejidos de interés, las tinciones que se sugieren para el estudio del hígado son: Tinción H-E y alguna tinción tricrómica. Los análisis de muestras hepáticas pueden incluir una impregnación argéntica para visualizar retícula, así como las técnicas de *PAS*

(*Periodic Acid-Schiff*, en inglés) y PAS-diestasa. La tinción del azul de Perls es empleada para demostrar hemosiderina acumulada en las células de Kupffer por causas variadas (hemólisis, transfusiones, etc.) o en los hepatocitos por enfermedades genéticas que afecten al metabolismo del hierro. Para el tejido renal se sugieren las de: H-E, PAS, y una técnica de metenamina de plata para examinar con detalle los compartimentos del tejido renal, con especial atención a las membranas basales, los depósitos, etc. (Montuenga-Badía et al., 2014).

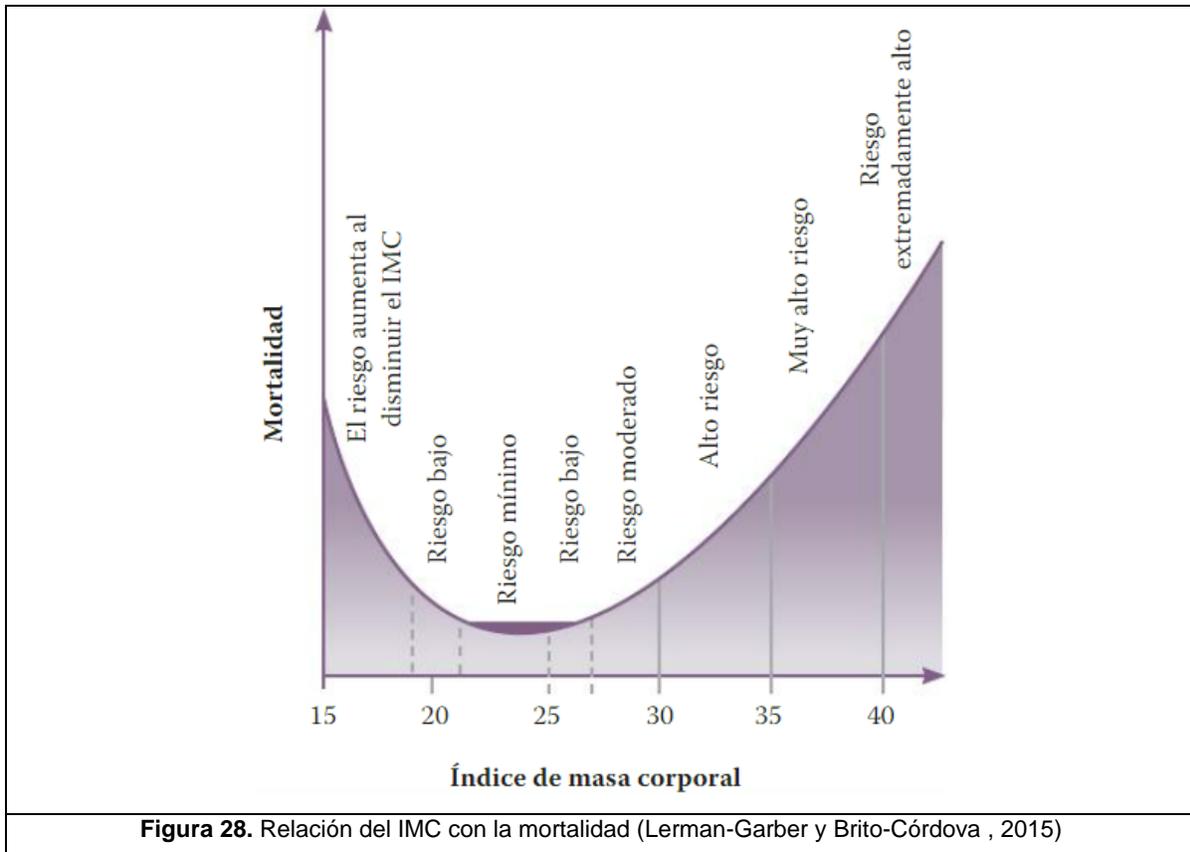
## **2.6. Patologías relacionadas con el consumo de edulcorantes calóricos**

### **2.6.1. Obesidad**

La obesidad es un problema mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) oficialmente la ha reconocido como una enfermedad crónica y la define como una acumulación de tejido adiposo a tal grado que perjudica la salud del individuo. Las principales causas de esta patología son la falta de ejercicio, la predisposición genética y la hiperfagia causada por algunos tipos de medicamentos (Lerman-Garber y Brito-Córdova 2015). Con la finalidad de contar con un indicador de esta patología y poder determinarla, existe un parámetro denominado índice de masa corporal (IMS), el cual es un indicador simple de la relación entre la masa de un individuo y su talla. Se calcula dividiendo la masa de una persona en kilogramos por el cuadrado de su talla en metros ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

Si este indicador es igual o mayor a 30 se considera que el individuo tiene esta patología, así como al riesgo de mortalidad al que está ligado como se observa en la Figura 28 (OMS, 2021). Hay, sin embargo, varios puntos que hacen a esta sobre simplificada medición muy subjetiva (Nuttall, 2015). Su principal causa es por un desequilibrio que ocurre entre la entrada y la salida de energía del cuerpo. Aunque esto se atribuye al aumento de la ingesta de alimentos densos en energía y a la disminución de la actividad física, actualmente las personas reciben medicamentos como los llamados antiinflamatorio que afectan el metabolismo y

provocan una desmedida ganancia de masa corporal. Por ello, esto debe ser estudiado con mayor profundidad. La patología está relacionada con otros riesgos para la salud y puede provocar diversos trastornos metabólicos, como son: La diabetes *mellitus* tipo II, las enfermedades cardiovasculares, la hipertensión y ciertos tipos de cánceres, por lo que no es una patología que se debe dejar pasar desapercibida (Ahmad e Imam, 2016).



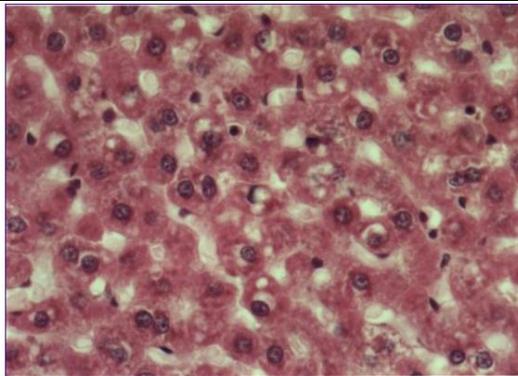
### 2.6.2. Diabetes *mellitus* tipo II

Esta patología se define como el resultado de la deficiencia en la producción o acción de la insulina, la cual está asociada con complicaciones que pueden afectar diversas partes del cuerpo llegando a complicarse. Por otra parte, la OMS la define como la incapacidad del organismo para utilizar eficazmente la insulina que produce. La mayoría de los diabéticos tienen la diabetes *mellitus* del tipo 2, que, en gran medida, se debe al exceso de masa corporal provocado por estos desequilibrios metabólicos. Los síntomas de la diabetes de tipo 2 pueden ser

similares a los que ocasiona la de tipo 1, pero con frecuencia son menos intensos. En consecuencia, a veces se diagnostica varios años después de manifestarse los primeros síntomas, cuando ya han aparecido las complicaciones (Lerman-Garber, y Brito-Córdova, 2015).

### 2.6.3. Hígado graso no alcohólico

El exceso de masa corporal genera resistencia a la insulina y un incremento en la acumulación de grasa a nivel visceral lo cual aumenta el riesgo de desarrollar diversas alteraciones metabólicas, entre las que se puede destacar el hígado graso no alcohólico (Lerman-Garber y Brito-Córdova, 2015). Esta patología hace referencia a la acumulación de grasa, principalmente de triacilgliceroles en el citoplasma de los hepatocitos en forma de grandes vacuolas de grasa (Caballería et al., 2014). Incluye un amplio espectro de alteraciones hepáticas como son la esteatosis y esteatohepatitis las cuales pueden evolucionar a fibrosis y cirrosis (Lerman-Garber y Brito-Córdova, 2015).



**Figura 29.** Esteatosis hepática. Vacuolas de distintos tamaños. HE- 400X (Maris-Daniele et al., 2007)

Sus posibles consecuencias son: La resistencia a la insulina, alteraciones del metabolismo de lípidos, exceso de masa corporal, el uso de ciertos medicamentos con efectos secundarios y consumo de diferentes hepatotóxicos. Según Maris-Daniele et al., (2007), el hígado graso no alcohólico se encuentra vinculado a patologías como son la obesidad y la diabetes tipo 2. Por tanto, dentro de esta enfermedad pueden presentarse diferentes y variadas lesiones que ponen en

riesgo el tejido. Resaltando la esteatosis hepática (Figura 29) que aumenta la vulnerabilidad del hepatocito frente a agresiones en el tejido hepático lo cual, al sumarse al daño hepático, puede generar procesos inflamatorios que agraven la problemática.

#### **2.6.4. Enfermedad renal crónica (ERC)**

Esta condición incluye a cualquier daño renal y del nivel de funcionalidad de este órgano (Lerman-Garber y Brito-Córdova, 2015). Es posible englobar diferentes padecimientos que afectan los riñones y que pueden evolucionar hasta una ERC terminal (Figura 29). Algunas de estas nefropatías son la glomerulonefritis crónica, nefropatía diabética, enfermedad renal poliquística, etc. Por lo general la ERC avanza hasta ser necesario el tratamiento de diálisis o trasplante del tejido renal (Vidal-Riella et al., 2015).

#### **2.6.5. Nefropatía diabética o enfermedad renal crónica diabética (ERCD)**

Es una complicación microvascular que se deriva tanto de la diabetes *mellitus* tipo 1 o tipo 2. Aunado a estas causas se encuentran algunas otras que intervienen también, como por ejemplo, el condicionante genético que explica la predisposición que se tiene a generar la enfermedad. Sin embargo, existen otros factores que pueden acelerar la degeneración del tejido causada por este padecimiento. Entre los más importantes se pueden mencionar las alteraciones metabólicas y la obesidad (Sobrado-de-Vicente-Tutor y Ruiz-Gómez, 2013). Algunos factores de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad renal es el mal control de la diabetes y de la tensión arterial, infecciones urinarias repetidas y el empleo de medicamentos que pudiesen afectar los riñones (Lerman-Garber y Brito-Córdova, 2015). Esta patología afecta a los riñones de manera tal que no pueden seguir con su función normal, que es filtrar las sustancias que el organismo no requiere. Cuando su función se ve afectada se puede observar la retención de líquidos, favoreciendo el aumento de la tensión arterial. Conforme avanza esta enfermedad las sustancias tóxicas que retiene el organismo pueden

alcanzar límites que pueden causar la muerte del individuo (Lerman-Garber y Brito-Córdova, 2015).

Con base en estos antecedentes bibliográficos en el siguiente capítulo se presenta la metodología seguida.

## CAPÍTULO 3

### METODOLOGÍA

#### 3.1. Descripción de la metodología

La metodología empleada comprendió la búsqueda de información de manera digital (artículos de investigación y artículos de revisión) en bases de datos de la Biblioteca Digital de la UNAM (*Elsevier Scopus, ScienceDirect, Springer, ProQuest, SciFinder*), así como libros digitales consultados en la misma biblioteca y la búsqueda a través de bases de datos abiertos independientes de la UNAM. Debido a las condiciones provocadas por la pandemia del COVID-19, no se obtuvieron datos experimentales de ningún tipo; el trabajo desarrollado fue teórico.

#### 3.2. Metodología descrita en la bibliografía consultada

Los estudios realizados por Espinoza-Pérez y García-Sánchez (2018) se presentan en el Anexo 1, donde se describe el diagrama de flujo de las tinciones de los hígados y de los riñones, las observaciones se realizaron en un microscopio óptico de campo claro siguiendo la metodología descrita por Welsh (2014a). La técnica para realizar la observación consiste en la realización de los siguientes pasos:

##### **Fijación**

Objetivo: Mantener al tejido en su estado natural y evitar su desintegración o autólisis, endurecer el material y así conseguir una mejor capacidad de corte, y eliminar bacterias u otros agentes etiológicos de enfermedades existentes en la muestra. Puede realizarse mediante fijación por inmersión o por perfusión que

consiste en infiltrar el medio de fijación a través del propio sistema vascular de los tejidos.

### **Inclusión**

Objetivo: La muestra de tejido fija es colocada en un disolvente adecuado para poder incluirlas en parafina líquida y luego cortarlas una vez que la parafina se solidifica. Las muestras fijas son sumergidas en un disolvente adecuado, que por lo general son una serie gradual de alcoholes de concentración creciente. En esta fase de la realización del preparado pueden surgir retracción o desgarros del tejido. Posteriormente, las muestras se incluyen en parafina o Paraplast. De forma alternativa a la parafina se puede utilizar resina sintética. Los cortes para este material deben contar con un espesor de 1-2  $\mu\text{m}$ , para que muestren las estructuras celulares e hísticas. Como una manera alternativa a este tipo de inclusiones, existe el método de microscopía, en el cual se logra el endurecimiento del tejido mediante la colocación de los fragmentos de órganos frescos en nitrógeno líquido. Luego se procede al corte del material congelado en un micrótopo de congelación especial. Este procedimiento evita la deshidratación, que se asocia con el peligro de retracción del tejido, y los solventes orgánicos que disuelven los lípidos, manteniendo su configuración natural y luego pueden mostrarse con métodos histoquímicos. Este tipo de preparación de cortes se realiza con mucha rapidez (Welsh, 2014a).

### **Corte**

Objetivo: Se realizan cortes finos para que, posteriormente, puedan colorearse resaltando sus estructuras. Para la microscopía óptica de rutina se realizan cortes de aproximadamente 5 a 8  $\mu\text{m}$  de espesor; con inclusión de resinas sintéticas los cortes pueden reducirse a un grosor de 1 a 2  $\mu\text{m}$ . La realización de los cortes requiere de instrumentos especiales (micrótopos). La criomicroscopía exige micrótopos de congelación especiales.

## Coloración

Objetivo: Los diversos elementos celulares e hísticos captan los colorantes con afinidad variable y así pueden distinguirse mejor. Las soluciones utilizadas como colorantes habitualmente en su mayoría son soluciones acuosas. Por esta razón, el corte tiene que desparafinarse y rehidratarse en pasos intermedios adicionales. Los diversos elementos celulares e hísticos captan los colorantes de manera diferente. Los componentes con cargas eléctricas negativas (componentes aniónicos), como el ADN, captan colorantes básicos (catiónicos), por ejemplo, la hematoxilina, denominándose **basófilos** (p. ej., el núcleo celular, algunas mucinas, proteoglucanos extracelulares y las granulaciones de Nissl) son de tipo basófilo. Los componentes celulares e hísticos con cargas eléctricas positivas, o sea los componentes catiónicos, captan los colorantes ácidos (aniónicos) y se denominan **acidófilos** o **eosinófilos**, porque el colorante ácido de uso más frecuente se llama eosina. Los colorantes ácidos tiñen, a los eritrocitos y al colágeno (Welsh, 2014a).

A continuación, en el siguiente capítulo se presentan los resultados obtenidos de esta investigación bibliográfica.

## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la presente investigación bibliográfica, fueron estudiadas diferentes metodologías, técnicas de tinción y equipos empleados de manera general para los estudios histológicos de los tejidos hepáticos y renales (Abo-EL-Sooud et al., 2018; Ali- Yassin et al., 2019; Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018; Guerrero-Alquicira et al., 2017; Inoue, 2009; Mariscal-Ramírez et al., 2019; Montuenga-Badía et al., 2014), así como también la anatomía de cada tejido (Arévalo-Gómez, 2008; Carretero et al., 2017; Junqueira y Carneiro, 2015a, b; Navarro et al., 2017; Ponce, 2016; Restrepo y Parra, 2009; Ross y Wojciech, 2012a, b; Sibulesky, 2013; Sobrado-de-Vicente-Tutor y Ruiz-Gómez, 2013; Vidal-Riella et al., 2015;).

Esta información es considerada como relevante, ya que al ser el principal objetivo de esta investigación (la búsqueda de las alteraciones asociadas al consumo crónico de edulcorantes hipocalóricos), se debieron de conocer las estructuras internas de los órganos bajo estudio (Carretero et al., 2017; Gartner, 2018; Junqueira y Carneiro, 2015a, b; Navarro et al., 2017; Ross y Wojciech, 2012a, b; Welsh, 2014 b, c) con la finalidad de realizar una correcta interpretación de los resultados. Adicionalmente, se llevaron a cabo investigaciones sobre los cambios bioquímicos (Alwaleedi, 2016; Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018; Mendoza et al., 2020; Prokić et al., 2014; Schiano, 2019), fisiológicos (Daher , 2019; Green y Syn, 2019; Winther et al., 2017), conductuales (Abu-Taweel, 2016; Bahena-Trujillo, 2000; Cárdenas-Suárez, 2014; Collison, 2016; Germano-Magalhães, 2018; Kumar y Chail, 2019; Yin et al., 2019) y tisulares (Carvajal-Carvajal, 2017; Choudhary, 2016; Risdon et al., 2020; Schiano et al., 2019; Schwartzmann-Rojas, 2002; Suez et al., 2014) observados por el consumo de estos aditivos alimentarios.

#### **4.1. Observaciones en hígado y riñones por consumo de edulcorantes no nutritivos**

Una vez expuesta la importancia morfo-fisiológica presentada de cada órgano, se expondrán las observaciones microscópicas recopiladas, mencionando los hallazgos encontrados en estudios similares, tomando como base el estudio realizado por Espinoza-Pérez y García-Sánchez (2018) en donde se utilizaron 176 ratas macho y hembra de la estirpe Wistar, recién destetadas, durante 120 días de experimentación, consumiendo los siguientes edulcorantes artificiales: Acesulfame de K, aspartame, mezcla de acesulfame de K-aspartame, estevia, sacarina y sucralosa. En cuanto al daño ocasionado en el tejido hepático observado en ese estudio, al realizar la técnica tintoreal de Hematoxilina- Eosina (HE) se observaron lesiones en torno a la aparición de pequeñas vacuolas lipídicas en el citoplasma alrededor del núcleo, lo que se tradujo como una degeneración vacuolar de las células hepáticas y, al realizar el análisis de varianza (ANDEVA) se concluyó que el daño vacuolar, había sido mayor para las ratas hembra que para los machos.

Por otra parte, también se presentó fibrosis e inflamación del tejido. Sin embargo, no se encontraron evidencias directas de que los edulcorantes estudiados hubieran sido los responsables directos de este fenómeno, solamente, al realizar la comparación del consumo crónico de acesulfame de K, mostraron los daños expuestos en la Figura 30. Este tipo de lesiones, aunque se catalogan como no significativas para generar un daño importante relacionado directamente con el consumo de los edulcorantes, la fibrosis se puede observar en la enfermedad de hígado graso no alcohólico, por lo que se sugiere que exista una posible relación del desarrollo de esta enfermedad con el consumo a largo plazo de estos edulcorantes, las cuales a su vez cobran importancia primordial al estar relacionados estrechamente con la enfermedad cardiovascular que presenta alta morbilidad cuando se presenta el hígado graso (Caballería et al., 2014). Al realizar la comparación de este estudio con otros similares en ratas (Ali et al., 2019; Inoue et al., 2009; Mariscal-Ramírez et al., 2019) donde se compararon lesiones

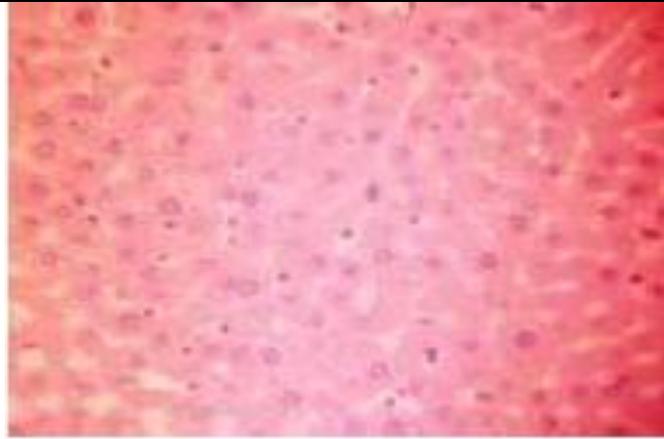
ocasionadas con otros aditivos alimentarios tras consumir durante 60 días de experimentación sorbato de potasio y tartrazina (Figura 31 c y e), se aprecia una degeneración vascular con congestión de las sinusoides sanguíneas y una infiltración de células inflamatorias en el área portal con fibrosis-hemolítica, respectivamente. Por lo que, hasta el momento, y con los edulcorantes estudiados en estos estudios son pocas las evidencias directas de que, con el consumo de edulcorantes de manera aislada, pueda generarse alguna patología como, por ejemplo, alguna enfermedad renal crónica (ERC) (Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018).

Resulta interesante observar que, adicionalmente a los edulcorantes artificiales, en la literatura revisada, se encontraron daños hepáticos de importancia por el consumo de algunos aditivos alimentarios como son el ácido benzoico, el sorbato de potasio, la tartrazina e hidroxianisol butilado (Figura XVII) (Abo-EL-Sooud et al., 2018).

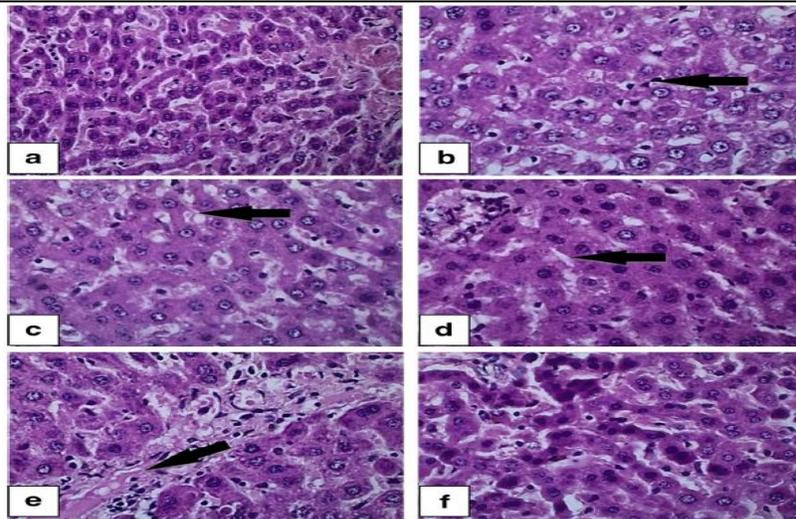
En cuanto al daño en el tejido renal observado en el estudio de Espinoza-Pérez y García-Sánchez (2018), se presentó un daño glomerular en los corpúsculos renales. Sin embargo, el análisis estadístico arrojó que no había relación entre el consumo de los edulcorantes estudiados, proponiéndose que las demás funciones del riñón, como son la regulación del equilibrio electrolítico y la excreción de desechos metabólicos, pudieron haberlo generado y no tanto, el consumo de edulcorantes estudiados.

En el mismo estudio se resalta que los pacientes con alteraciones metabólicas tienden a presentar daños en el tejido e incluso fallo del órgano renal. También evaluaron la degeneración celular del sistema tubular y, aunque según el análisis estadístico no vio reflejado una relación directa con el daño ocasionado por los edulcorantes, las ratas macho presentaron una mayor afectación glomerular que las hembra (Figura 32), sobre todo, con aquellas que consumieron acesulfame de K, aspartame, la mezcla de ambos y estevia. Con ello, se corroboró que el

comportamiento metabólico entre ambos géneros fue distinto respecto con la ingesta de los edulcorantes (Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018).



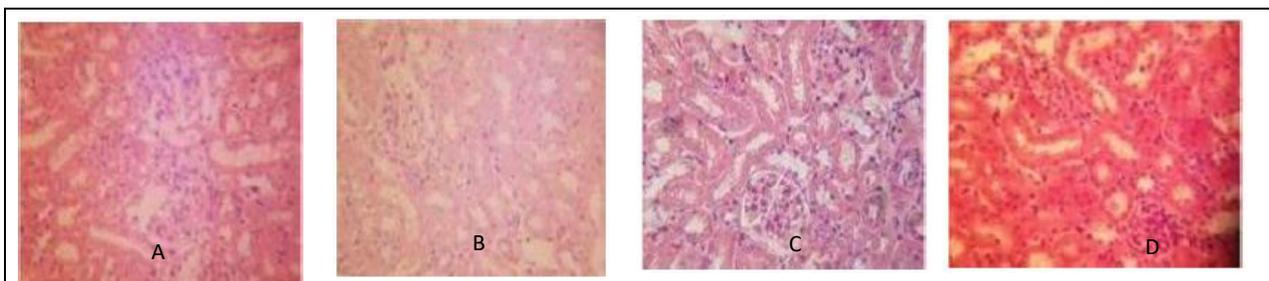
**Figura 30.** Microfotografía de hígado de rata macho con degeneración vacuolar moderada y fibrosis/inflamación leve por el consumo de acesulfame de K durante 120 días experimentales. Tinción con hematoxilina-eosina (H & E). (Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018)



**Figura 31.** Microfotografías de hígados de rata embebidos en parafina tratados con diferentes aditivos.

Tinción con hematoxilina-eosina (H & E) a 400 X (Abo-EL-Sooud., *et al*, 2018).

- a. Sección de hígado de ratas control que muestran normal apariencia histológica
- b. Sección de hígado de rata tratado con ácido benzoico necrosis focal de hepatocitos con marcada activación células de Van Kupffer (flecha negra) y congestión de sinusoides sanguíneos
- c. Sección de hígado de rata tratado con sorbato de potasio mostrando degeneración vascular y congestión de las sinusoides sanguíneas (flecha negra)
- d. Sección de hígado de rata tratado con clorofila mostrando degeneración vacuolar y una infiltración focal de células inflamatorias entre los hepatocitos
- e. Sección de hígado de rata tratado con tartrazina mostrando infiltración de células inflamatorias en área portal y fibrosis, así como hemólisis (flecha negra)
- f. Sección de hígado de rata tratado con hidroxianisol butilado mostrando distorsión del hígado cordones y congestión de sangre sinusoidal (Abo-EL-Sooud., *et al*, 2018).



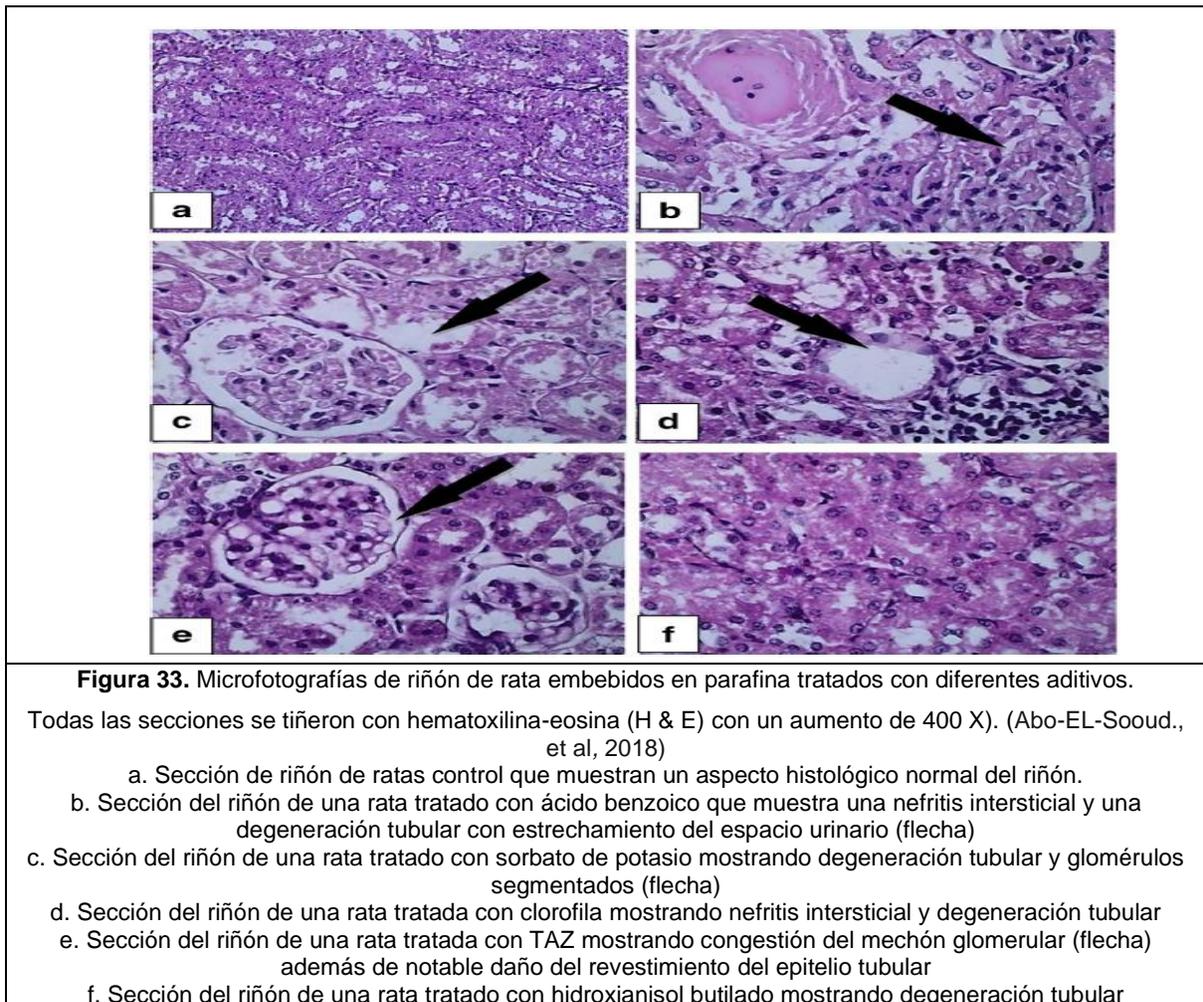
**Figura 32.** Micrografías de riñones de ratas macho que consumieron diferentes edulcorantes durante 120 días

- A) Microfotografía de riñón de rata macho con daño glomerular grave y degeneración celular tubular grave por consumo de Acesulfame de K durante 120 días (Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018);
- B) Microfotografía de Riñón de rata macho con daño glomerular grave y degeneración celular tubular grave debido al consumo de Aspartame durante 120 días (Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018)
- C). Microfotografía de Riñón de rata macho que presenta un daño glomerular grave y degeneración celular tubular grave por consumo de mezcla de Aspartame- Acesulfame K por 120 días (Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018);
- D) Microfotografía de Riñón de rata macho con daño glomerular grave y degeneración celular tubular moderado por consumo de estevia por 120 días (Modificado de Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018)

En la Figura 33 se aprecian los daños ocasionados en el tejido renal por el consumo de diferentes aditivos alimentarios como son el ácido benzoico, el sorbato de potasio, la tartrazina y el hidroxianisol butilado durante 60 días (Abo-EL-Sooud et al., 2018). En las tinciones se observan con mayor detalle los daños ocasionados en el tejido renal al compararse entre ellas contra el grupo control (Figura 33a), observándose daños persistentes en los tejidos. De igual manera se han observado daños en los tejidos por el consumo de colorantes alimentarios produciendo un aumento de células cancerígenas (Ali, 2019; Inoue, 2009).

Desafortunadamente los estudios realizados por Abo-EL-Sooud et al., 2018, no relacionan la formación de células cancerígenas con el consumo de los edulcorantes. Sin embargo, y como se mencionó con anterioridad, sí existe esta tendencia del desarrollo de cáncer por otros aditivos que son también ampliamente empleados en la industria alimentaria. De acuerdo con Hodge et al. (2018), el consumo de bebidas que contienen edulcorantes no nutritivos sintéticos se encuentran relacionados directamente con el desarrollo de la obesidad y sus riesgos cardio metabólicos, mas no hay una relación con el desarrollo de cáncer en diversos tejidos del organismo, entre ellos hígado y riñón. Así como fue mencionado por Espinoza-Pérez y García-Sánchez (2018), los daños ocasionados

en su estudio quizá no fueron resultado del consumo de los edulcorantes, pero existe la posibilidad de que hayan sido provocados indirectamente. Lo anterior es de relevancia, ya que, al tratarse parte de la nefrona, puede llegar a inducir patologías asociadas a este daño.



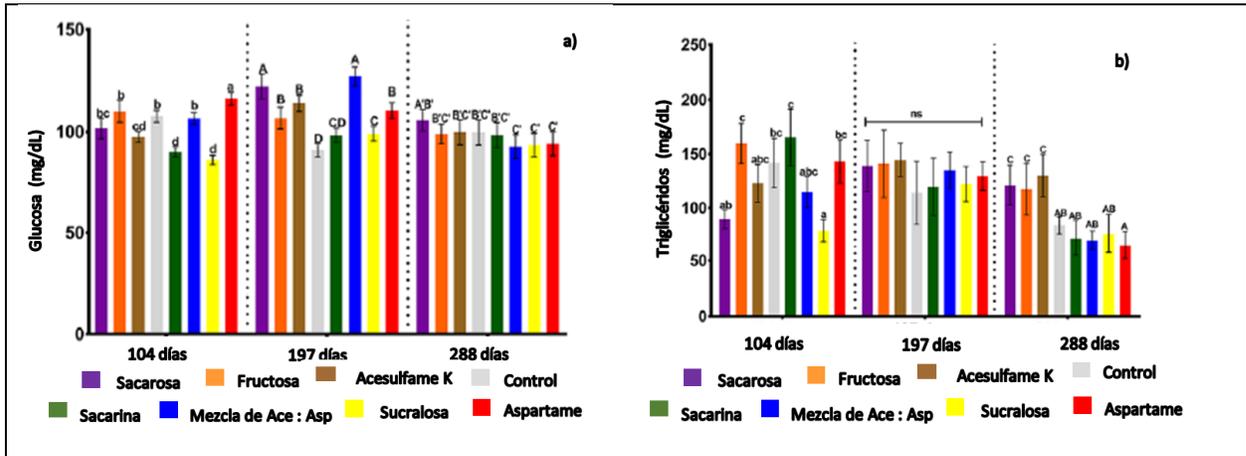
Complementando la investigación realizada a nivel histológico y siguiendo como base el estudio realizado por Espinoza-Pérez y García-Sánchez (2018), se expondrán las alteraciones bioquímicas de importancia encontradas en la realización de esta búsqueda bibliográfica. Puesto que, las patologías a las que se vinculan este tipo de alteraciones histológicas se relacionan con cambios que se pueden observar en niveles de componentes bioquímicos en la sangre de los individuos.

## 4.2. Alteraciones bioquímicas

Derivado de un estudio sobre el consumo de diferentes edulcorantes no nutritivos y nutritivos (Acesulfame, aspartame, mezcla de aspartame y acesulfame, sacarina, sucralosa, sacarosa y fructosa) durante 288 días estudiados por Mendoza et al., (2020) exclusivamente en ratas macho de estirpe Wistar. Se encontraron las siguientes alteraciones bioquímicas a causa de los edulcorantes no nutritivos utilizados en el estudio: Niveles altos de glucosa sérica, afectados en los grupos de ratas que consumieron sacarina, aspartame y sucralosa, comparados con los niveles del grupo control. Niveles altos de triglicéridos, estos variaron según el edulcorante en cuestión, ya que para el caso del grupo de la sacarosa disminuyeron los niveles de triglicéridos. Por ello, se sugiere que existe un efecto en los receptores del Receptor Activado por proliferadores de peroxisomas alfa (PPAR- $\alpha$ ), el cual, incrementó la expresión de lipoproteinlipasas. En contraste, los grupos de sucralosa y de acesulfame de K incrementaron los niveles de estos componentes en el plasma sanguíneo. Por otro lado, el **colesterol** aumentó en los grupos que consumieron acesulfame de K, aspartame, sacarina y sucralosa, pero, en el caso especial del aspartame, se sugiere que con su consumo crónico pudiesen generarse cambios bioquímicos, lipídicos y hepáticos los cuales podrían desencadenarse en hiperglicemia e hipercolesterolemia. Finalmente, la **insulina** se vio disminuida en los grupos que consumieron sucralosa y la mezcla de acesulfame-aspartame, en contraste con el consumo de sacarosa, la cual generó un aumento de esta hormona (Mendoza et al., 2020).

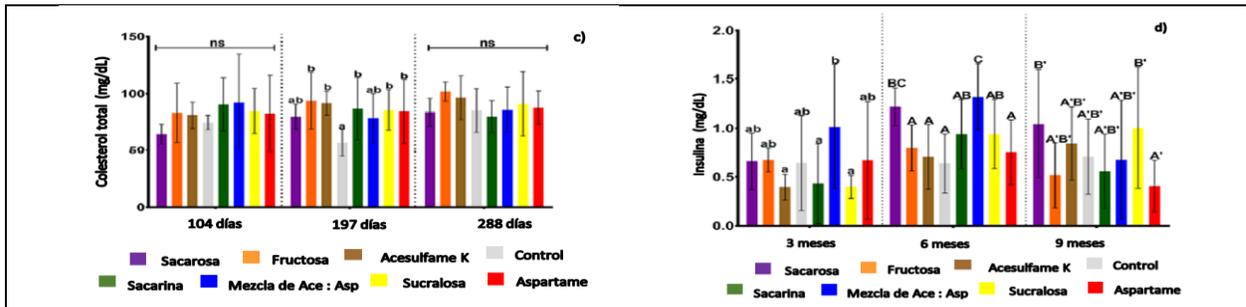
Los cambios mencionados fueron dependientes del tiempo de exposición. Sin embargo, es importante señalar que ninguno alcanzó los niveles de una patología inducida por el consumo de estos edulcorantes. Por ello, será importante realizar las comprobaciones histológicas en los tejidos obtenidos (hepáticos y renales) del experimento que tuvo una duración de 480 días en ratas hembra y macho de la estirpe que bebieron edulcorantes nutritivos y no nutritivos.

A continuación, en las Figuras 34 y 35 se muestran los resultados obtenidos de los niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol e insulina al consumir edulcorantes nutritivos y no nutritivos estudiados por Mendoza *et al.*, (2020).



**Figura 34.** Estos datos fueron obtenidos de ratas macho Wistar con un consumo de edulcorantes por 104, 197 y 288 días

- A) Promedio de glucosa en sangre en ayunas en las tres etapas experimentales. Letras diferentes indican diferencias significativas.  
 B) Promedio de niveles de triglicéridos en las tres etapas experimentales. Letras diferentes indican diferencias significativas y ns=sin diferencia estadística (Modificado de Mendoza, *et al.*, 2020)



**Figura 35.** Estos datos fueron obtenidos de ratas macho Wistar con un consumo de edulcorantes por 104, 197 y 288 días

- C) Promedio de los niveles de colesterol total en las tres etapas experimentales. Letras diferentes indican diferencias significativas y ns=sin diferencia estadística.  
 D) Promedio de los niveles de insulina en las tres etapas experimentales. Letras diferentes indican diferencias significativas y ns= sin diferencia estadística (Modificado de Mendoza, *et al.*, 2020)

Observando en los resultados que los edulcorantes no nutritivos pudiesen estar relacionados con alteraciones metabólicas, siendo uno de los principales causantes de la Diabetes *mellitus* tipo 2. Se destacan especialmente los cambios

en la homeostasis de la glucosa e insulina. Sin embargo, aunque los estudios siguen siendo inconcluyentes se considera importante mencionar los resultados obtenidos hasta el momento. Especialmente con la sucralosa, se ha visto que este edulcorante se encuentra directamente asociado con la respuesta que tiene el cuerpo a la insulina. Durante un estudio realizado por Bueno-Hernández (2020) en donde adultos jóvenes (22 a 26 años) sanos consumieron diariamente de 48 a 96 mg de sucralosa durante 10 semanas, que es equivalente a una o dos sodas de dieta demostraron que con 48 mg de sucralosa durante 10 semanas el edulcorante es bioacumulable, reduciendo la sensibilidad de la insulina en adultos jóvenes.

Comparando los resultados obtenidos por Mendoza *et al.*, (2020) con los de un estudio realizado por Schiano *et al.*, (2019), en donde se estudiaron durante 8 semanas diferentes parámetros en ratones macho de la cepa C57BL/6 los cuales consumieron edulcorantes nutritivos disueltos en agua potable (sacarosa, glucosa, fructosa) y no nutritivos (aspartame, ciclamato de sodio, rebaudiósido A) se observaron las siguientes variaciones bioquímicas: En cuanto a los niveles de glucosa, se observó un aumento de glucemia al consumir tanto la solución con dosis bajas del rebaudiósido A así como con la solución con ciclamato de sodio. En cuanto a los niveles de lípidos se observó una reducción en los triglicéridos plasmáticos debido a las dosis altas de ciclamato de sodio, mientras que, en cuanto al metabolismo de colesterol, no se vieron afectados con todos los tratamientos utilizados, solo con dosis bajas del rebaudiósido A, como se muestra en la Tabla 3. Por otro lado, es importante mencionar, que las evidencias del consumo crónico de aspartame de este estudio indujo estrés oxidativo en los tejidos hepáticos y renales ya que se observaron un aumento en los niveles de Malonaldehído, (subproducto mayoritario de la oxidación de los ácidos grasos membranales), lo cual indica la presencia de que hubo una peroxidación lipídica (LPO, por sus siglas en inglés), sugiriendo que el consumo de aspartame, estimula la oxidación de las membranas y subsecuentemente, puede presentarse daño celular en los tejidos.

**Tabla 3. Valores metabólicos estudiados (Tomado de Schiano, 2019)**

Tratamiento	Control	Glucosa	Sacarosa	Fructosa	Aspartame	Rebaudiósido A	Ciclamato de Sodio
<b>Glucosa (mg/dL)</b>							
Dosis baja	146.2±16.7	166.0±7.1	142.0±4.6	105.0±2.3*	120.2±4.2	206.4±6.9*	210.2±12.3*
Dosis alta	192.0±13.2	191.3±19.6	220.4±16.2*	204.1±20.8	184.1±18.0	212.0±14.5*	204.7±14.8
<b>TG (mg/dL)</b>							
Dosis baja	145.3±7.2	134.0±8.6	106.3±2.7*	109.2±15.8*	144.9±2.3	130.2±8.1	116.2±2.9
Dosis alta	147.0±14.4	135.2±29.1	100.1±16.0*	108.0±24.2*	147.1±26.3	135.7±6.7	118.2±16.7*
<b>Col-T (mg/dL)</b>							
Dosis baja	152.0±6.1	123.4±6.7*	122.0±8.4*	133.6±3.8	135.3±6.3	122.0±5.2*	136.3±12.3
Dosis alta	156.3±10.3	134.0±16.6*	170.1±14.6*	130.4±10.6*	163.4±17.1	159.4±13.1	149.2±13.7

**Donde:** TG: Triglicéridos; Col-T: Colesterol total

Adicionalmente, se observó una disminución de glutatión, el cual tiene un papel importante en la eliminación de radicales libres dañinos presentes en estos órganos, por lo que el aspartame al tener subproductos metabólicos como metanol y formaldehído genera un estrés oxidativo ya que demanda una mayor cantidad de esta molécula con el objetivo de desintoxicar correctamente los órganos en cuestión (Alwaleedi, 2016). Estos resultados también fueron posibles observarlos de manera similar en el estudio realizado por Prokić et al., (2014), ya que como se aprecia en la Tabla 4, algunos de los parámetros explicados por Alwaleedi, (2016) cambiaron en ese estudio. A su vez, los resultados anteriormente mencionados, contrastaron con los obtenidos en el estudio realizado por Schiano et al., (2019), donde se observó que, la función hepática, fue conservada después de la mayoría de los tratamientos de edulcorantes realizados, con excepción del tratamiento con dosis altas de aspartame, pues se generó un aumento en los niveles séricos de aspartato aminotransferasa, enzima de gran importancia, ya que puede ser un indicador de daño hepático e indicador de algunas patologías como hígado graso, cirrosis e inclusive cáncer.

**Tabla 4. Efecto del aspartame (ASP) en sangre NO, LPO, GSH, GSSG y GSH RI**

**ON: óxido nítrico; LPO: peroxidación lipídica; GSH: glutatión reducido; GSSG: glutatión oxidado; GSH RI: índice redox de glutatión (UA: Unidad arbitraria) (Tomado de Prokić, 2014)**

Parámetros	Grupos experimentales	
	Control	Aspartame
ON (µmol/ L)	23.34 ± 1.97	53.48 ± 2.49*
LPO (µmol/ L)	3.28 ± 0.20	4.59 ± 0.23*
GSH (mmol/L)	5.58 ± 0.54	3.17 ± 0.18*
GSSG (µmol/ L)	1.17 ± 0.10	2.24 ± 0.12*
GSH RI (UA)	3.91 ± 0.16	2.12 ± 0.24*

**Donde ON: óxido nítrico; LPO: peroxidación lipídica; GSH: glutatión reducido; GSSG: glutatión oxidado; GSH RI: índice redox de glutatión (UA: Unidad arbitraria)**

En cuanto a la función renal en el estudio de Schiano, (2019), se determinó la presencia de daño hepático por medio de la cuantificación de nitrógeno ureico en sangre, por lo que se expuso, que no hubo alteraciones en sus niveles después de todos los tratamientos bajo investigación de los edulcorantes artificiales estudiados por este autor (aspartame, ciclamato de sodio y rebaudiósido A).

Por ello, debe de tomarse en consideración que, aunque los parámetros estudiados no fueron los mismos que en los estudios anteriores, dan la pauta a considerar la presencia o ausencia de algún tipo de daño por el consumo en exceso de este tipo de edulcorantes, sobre todo el aspartame que, en cualquiera de los casos, sí generó cambios bioquímicos en el tejido hepático.

### **4.3. Alteraciones fisiológicas**

A continuación, se reportan las alteraciones fisiológicas encontradas en este trabajo documental.

Con la finalidad de determinar si los edulcorantes artificiales podían asociarse directamente con el desarrollo de la diabetes *mellitus* tipo II, Daher (2019) desarrolló una tabla en donde expuso los resultados de investigaciones de varios autores (Leahy et al., 2017; Romaguera et al., 2013; Yarmolinsky et al., 2016) ya que al ser los principales sustitutos de edulcorantes nutritivos dentro de la dieta de los consumidores diabéticos y obesos, era necesario conocer el impacto que estos

podrían generar en su salud. Cabe mencionar que en los estudios realizados evidenciaron, en las bebidas endulzadas no alcohólicas endulzadas con edulcorantes artificiales, no aumentaron el riesgo de padecer diabetes *mellitus* tipo II. Sin embargo, y a reserva de algunas variantes de los participantes, los resultados fueron diferentes en cada estudio, como se exponen en la Tabla 5.

**Tabla 5. Comparativa de estudios que describen la asociación entre el consumo de edulcorantes no nutritivos y el riesgo de desarrollar Diabetes *mellitus* tipo II. Tomada y modificada de Daher, 2019)**

<b>Autores</b>	<b>Fuente de edulcorante no nutritivo</b>	<b>Variantes de la población</b>	<b>Resultado</b>
Leahy et al., (2017)	No especificado (Todo tipo de bebidas bajas en calorías)	Edad, sexo, origen étnico, estado actual de tabaquismo, índice de pobreza de ingresos, nivel de actividad física, consumo de alcohol e índice de masa corporal.	Concluyeron que el consumo de bebidas endulzadas bajas en calorías (LCSB) estaban asociadas con una disminución de los marcadores de prediabetes, disminuyendo así el riesgo de padecer diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
Yarmolinsky et al., (2016)	Bebidas endulzadas con edulcorantes no nutritivos (refresco de cola, té, jugos reconstituidos, etc.)	Modelo 1 (M1): Sexo, edad, raza / color de piel, lugar donde se desarrollaron los estudios Modelo 2 (M2): M1+ estado actual de tabaquismo, nivel de actividad física, hipertensión, antecedentes familiares de diabetes, dieta de los 6 meses anteriores, consumo de alcohol, consumo de bebidas endulzadas con azúcar de caña, consumo de bebidas sin azúcar de caña, consumo de alimentos "light", ingesta total de energía, índice de masa corporal y relación cintura- cadera.	Concluyeron la existencia de una asociación nula entre el consumo de las bebidas con edulcorantes no nutritivos cuando el índice de masa corporal era el adecuado.
Romaguera et al., (2013)	Refrescos endulzados con edulcorantes no nutritivos	Modelo ajustado (MA): Sexo, nivel educativo, actividad física, tabaquismo, consumo de alcohol, jugos y refrescos fueron ajustados entre ellos. Los refrescos endulzados con azúcar y endulzados artificialmente fueron ajustados también entre ellos más el ajuste por consumo de jugo; Modelo 2 (M2): sumatoria de MA + la ingesta energética; Modelo 3 (M3): Sumatoria de M2 + el índice de masa corporal.	Concluyeron la existencia de una asociación nula en el consumo de las bebidas con edulcorantes no nutritivos cuando el índice de masa corporal era ajustado en pacientes obesos no habiendo una asociación en pacientes con valores normales de IMC.

También, es importante señalar que, para desarrollar la diabetes *mellitus*, deben de considerarse diferentes factores como son la obesidad, el IMC (Índice de masa

corporal) y la microbiota intestinal del individuo. Desafortunadamente, en el artículo expuesto por Daher (2019) no se expresa claramente cuáles fueron los edulcorantes que provocaron este tipo de afección, pero con lo expuesto en él si es posible sugerir que los edulcorantes artificiales utilizados en este tipo de bebidas pudiesen llegar a inducir la diabetes *mellitus* tipo II.

Por otro lado, Green y Syn, (2019) encontraron diferentes relaciones entre los edulcorantes artificiales consumidos con el aumento de masa corporal. Sugiriendo que este aumento no es una consecuencia directa de su consumo, sino que desencadenan comportamientos en el individuo que llegan a generar un aumento de masa como lo es el aumento de la ingesta de alimentos altos en contenido graso, alto en proteínas y las calorías provenientes de la sacarosa, la fructosa, la sal, etc.

Además, en individuos con algún tipo de diabetes diagnosticada, se ha observado un consumo más alto de bebidas endulzadas con edulcorantes artificiales que en individuos que no tienen esta patología. Aunado a estos aumentos del consumo de alimentos, también se han observado otro tipo de sintomatologías asociadas como es la ganancia de masa corporal la cual, da una fatiga excesiva y limitó a los individuos bajo estudio a tener entusiasmo de realizar alguna actividad física extra (Winther et al., 2017).

Finalmente, al considerar si el consumo de edulcorantes artificiales tuviese un potencial desarrollo de hígado graso, se encontró una relación entre el consumo de aspartame con el aumento de tejido adiposo en el hígado (hígado graso) y otras consecuencias del síndrome metabólico como son la hiperglucemia, el aumento de triacilglicerol, la lipoproteína de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés) y la lipoproteína de muy baja densidad (VLDL, por sus siglas en inglés) (Green y Syn, 2019).

#### **4.4. Alteraciones conductuales**

Las alteraciones conductuales encontradas en ratas por el consumo de edulcorantes han sido variadas, ya que son dependientes al tiempo de exposición, al tipo de edulcorante utilizado, a la dosis involucrada e inclusive, al estado de salud del individuo. Algunos de ellos, son descritos a continuación:

Como se menciona en el estudio de Yunker., et al (2020) existen alteraciones con el comportamiento alimenticio derivado del consumo de los edulcorantes no nutritivos. Lo anterior se deriva de diferentes estudios (Crézé et al., 2018a) y (Crézé et al., 2018b) en donde la línea de investigación es la respuesta del hipotálamo cuando se somete a un consumo de edulcorantes como la sucralosa, maltodextrina y aspartame. Estos edulcorantes pudieron haber atenuado los efectos de señalización de saciedad hipotalámica, en comparación con los glúcidos nutritivos. El hipotálamo es una región del cerebro que regula el apetito y la homeostasis energética.

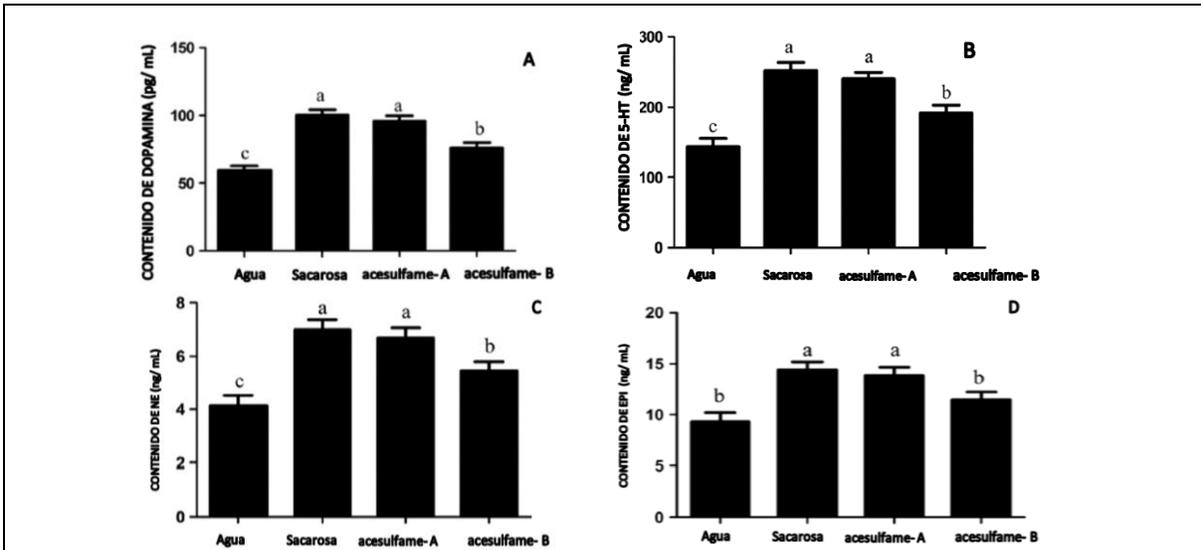
Para el caso del aspartame, se han realizado hallazgos asociados a su consumo en ratas en desarrollo, siendo los principales cambios de comportamiento observado un alto nivel de saciedad ante el consumo de dicho edulcorante y, por lo tanto, la reducción de la ingesta de alimentos. También se ha sugerido la existencia de un aumento de ansiedad y nerviosismo por el consumo de este edulcorante, pues se han observado expulsiones fecales inesperadas en las ratas sometidas a dicho estudio. Lo anterior, sugiere la posibilidad de que el aspartame o los productos resultantes de su metabolismo, actúen en el sistema nervioso central como un agente ansiogénico, al activar los receptores de N metil-D-aspartato (NMDA) (Germano-Magalhães, 2018).

Se ha estudiado que la sacarina también genera alteraciones conductuales, pues se corrobora que la sacarosa es capaz de acentuar los síntomas de ansiedad,

mientras que la sacarina (sustituto del azúcar), en una dieta de acceso libre, atenúa los síntomas de depresión en ratas diabéticas (Collison, 2016).

Cuando a los animales de experimentación se les retiró el edulcorante suministrado después de un determinado tiempo de experimentación, se encontraron síntomas de depresión y ansiedad en ratones diabéticos debido a la elevación del estrés oxidativo cerebral, a la actividad MAO-A, la cual, es una enzima mitocondrial que cataliza la degradación oxidativa de neurotransmisores de amina, preferentemente serotonina y norepinefrina, las cuales, contribuyen al desequilibrio redox del glutamato-calcio y la elevación de los niveles de corticosterona en sangre (Kumar y Chail, 2019).

Por otro lado, otro hallazgo de importancia fue que el efecto ocasionado por el consumo de edulcorantes no nutritivos presentó un efecto en los diferentes neurotransmisores al consumir “ad libitum” sucralosa y acesulfame de K afectando de una manera similar la cantidad de Dopamina producida por el cerebro, 5-HT (5-hidroxitriptamina), Norepinefrina y Epinefrina (Yin et al., 2019), como se aprecia en la Figura 36. Los neurotransmisores sobre los que se presentó algún efecto por el consumo de edulcorantes artificiales son de importancia, ya que son vitales para controlar las diferentes funciones dentro del cuerpo humano. Por ejemplo, la Dopamina participa en la regulación de la conducta motora, la emotividad y la afectividad, así como en la comunicación neuroendocrina, entre otras (Bahena-Trujillo, 2000). A su vez la 5-HT (5-hidroxitriptamina), mejor conocida como Serotonina, regula el sueño, los estados de ánimo y la emotividad; mientras que la Norepinefrina y Epinefrina los cuales son excitatorios o inhibidores del sistema nervioso central, controlan la reacción del cuerpo humano a diferentes estímulos externos (Cárdenas-Suárez, 2014). Este tipo de desequilibrios superpuestos en los neurotransmisores pueden generar efectos graves como trastornos mentales, alteraciones en la atención cognitiva y un funcionamiento neuronal desordenado, además de incrementarse la ansiedad y la agresión (Abu-Taweel, 2016).



**Figura 36.** Contenido de neurotransmisores en ratones.

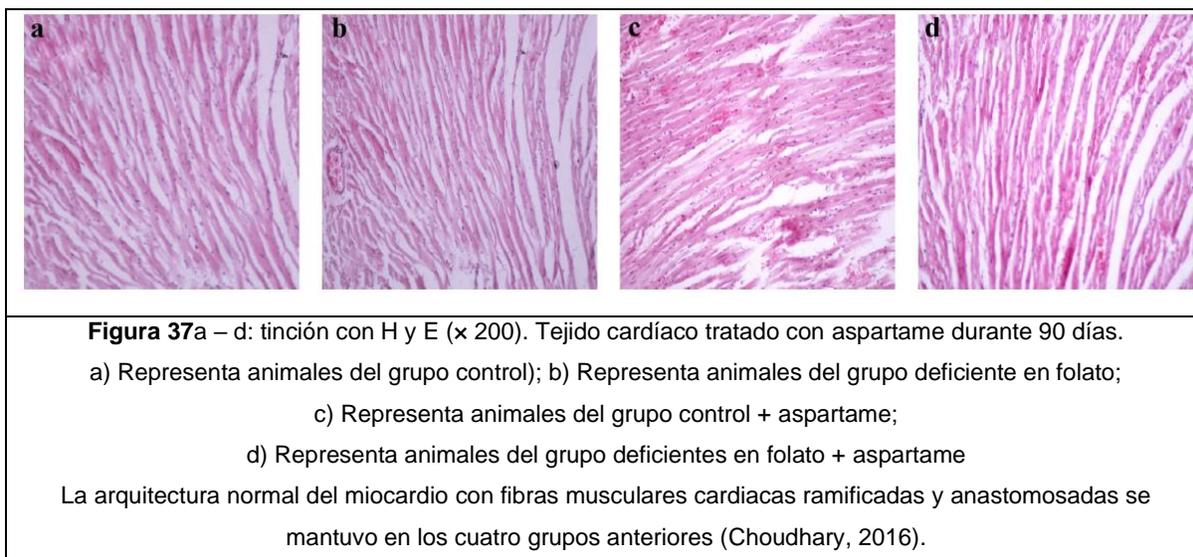
A. Contenido de dopamina (DA); B. Contenido de 5-hidroxitriptamina (5-HT); C. Contenido de norepinefrina (NE); D. Contenido de epinefrina (EPI). Las diferentes letras minúsculas indican una diferencia significativa (Modificado de Yin, et al, 2019)

#### 4.5. Alteraciones tisulares

Finalmente, y complementando la investigación de este trabajo monográfico, entre las alteraciones tisulares derivadas del consumo de edulcorantes artificiales, se puede mencionar el estudio realizado por Choudhary (2016), en donde, se destaca, el estrés oxidativo observado en el tejido cardíaco, como resultado del consumo de aspartame, ya que este edulcorante, actúa como un estresante químico, e induce la generación de radicales libres, que pueden causar estrés oxidativo en este tejido, deteriorando así la función cardíaca. Sin embargo, no se observaron cambios estructurales en este tejido durante los 90 días en los que se realizó el estudio, por lo que se dedujo que quizás con un mayor tiempo experimental hubiera sido posible la detección de otro tipo de lesiones dentro del tejido, que, al igual que en el caso de los tejidos hepáticos y renales, sugieren que el metanol, el formaldehído o metabolitos del aspartame, pudieran ser los factores causantes de los cambios observados.

Cabe mencionar que como se puede observar en la Figura 37, no se han encontrado daños histológicos en animales que presentan deficiencia de folato con el consumo de aspartame, esta condición es importante, ya que puede presentarse mediante diferentes patologías, principalmente causadas por la enfermedad de Crohn, celiacía, consumo excesivo de alcohol y anemia hemolítica (Choudhary, 2016).

El estudio de Choudhary (2016), mencionado anteriormente, corroboró los resultados presentados por Espinoza-Pérez y García-Sánchez, (2018) al exponer que los edulcorantes artificiales no presentaron efectos adversos sobre el tejido cardíaco de los individuos que tuvieron complicaciones en su salud o falta de nutrientes dentro de su organismo. Sin embargo, es necesario realizar un mayor número de estudios en donde se demuestre que el consumo de edulcorantes artificiales es inocuo a cualquier nivel.



Aunado a estos hallazgos se sugiere que existen otras alteraciones dentro del sistema vascular, principalmente el endotelio, la cual es una barrera altamente selectiva y un órgano metabólicamente muy activo, que juega un papel crucial en la homeostasis vascular, ya que es el encargado de realizar diferentes e importantes funciones dentro del organismo, que, por mencionar algunas de ellas,

se encuentra asociado a las propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antitrombóticas en el organismo (Carvajal-Carvajal, 2017).

En un estudio realizado por Risdon et al., (2020) se encontró, que dentro de las alteraciones que se han encontrado en el sistema vascular, se ha identificado, la existencia de un mayor riesgo en la mortalidad total y por enfermedades cardiovasculares en mujeres que consumen cuatro o más porciones de bebidas que contienen edulcorantes no nutritivos por día. Sin embargo, la interpretación de este resultado es difícil ya que estos aditivos son consumidos generalmente por personas que ya padecen obesidad o afecciones cardio metabólicas.

Es importante mencionar, que los edulcorantes artificiales parecen no modificar la proliferación celular, la distribución del ciclo celular, así como tampoco inducen efectos citotóxicos y no comprometen la capacidad angiogénica de las células HUVEC (Human Umbilical Vein Endotelial Cells). Hasta la fecha no se han documentado efectos de estos edulcorantes, a excepción del aspartame, que se ha informado sobre la capacidad de inducir angiogénesis (Suez et al., 2014), esto es importante pues este es el proceso esencial para el crecimiento tumoral progresivo y la capacidad de dar metástasis (Schwartzmann-Rojas, 2002). Finalmente, también existen diferentes estudios que han demostrado que los edulcorantes artificiales pueden agravar algunos tipos de lesiones en el cerebro, en concreto de la lesión isquémica cerebral en ratones, probablemente a través del deterioro de las células progenitoras endoteliales y de producción de angiogénesis en el cerebro isquémico (Schiano et al., 2019).

Con base en lo encontrado en esta investigación bibliográfica, a continuación, se presentan las conclusiones a las que se llegó.

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

Con base en el objetivo principal de esta revisión bibliográfica donde se buscó la posible existencia de daños hepáticos y nefrológicos en roedores de la estirpe Wistar, ocasionados por el consumo crónico de edulcorantes artificiales o hipocalóricos a largo plazo y siguiendo la hipótesis de que el consumo crónico de edulcorantes no nutritivos suministrados “*ad libitum*” durante 480 días en ratas de la estirpe “Wistar” recién destetadas generan daños en dos órganos, hígado y riñones, al compararse con un grupo control que consumió agua simple, así como analizando los diferentes estudios que fueron encontrados, pueden expresarse las siguientes conclusiones.

#### Hígado

- El acesulfame de K fue el único de los edulcorantes analizados por Espinoza-Pérez y García-Sánchez (2018) que provocó la degeneración vacuolar en hepatocitos
- Las células de las hembras resultan ser más propensas al daño vacuolar generado por el acesulfame de K
- A partir de la degeneración vacuolar son generadas vacuolas lipídicas que se sugiere pueden dar paso a la generación de la enfermedad de hígado graso no alcohólico
- El tipo de lesiones que pudiesen presentarse en este órgano en un menor tiempo de consumo que los edulcorantes pueden deberse al consumo de conservadores como son el sorbato de potasio y la tartrazina

## **Riñones**

- No se encontró alguna relación directa que pueda afirmar que los edulcorantes generen daño dentro del tejido renal, sin embargo, si pueden afectar las funciones de este órgano
- Se presentaron estudios de degeneración del sistema tubular y daño glomerular en el consumo de acesulfame K, aspartame, la mezcla de ambos y de estevia
- Algunos colorantes pueden ocasionar el aumento de células cancerígenas en tejido renal

## **Alteraciones bioquímicas**

- En los estudios revisados sobre las implicaciones de los edulcorantes en las alteraciones a nivel bioquímico se concluyó que los niveles de glucosa sérica fueron afectados por la sacarina, aspartame, rebaudiósido A, ciclamato de sodio y sucralosa
- Los triglicéridos fueron afectados por la sucralosa y acesulfame de K
- El colesterol fue afectado por acesulfame K, aspartame, sacarina, rebaudiósido A y sucralosa
- La insulina se vio alterada por la sucralosa y la mezcla de acesulfame de K-aspartame, siendo la sucralosa de mayor relevancia ya que es posible que se llegue a afectar la sensibilidad del cuerpo hacia esta hormona

## **Alteraciones fisiológicas**

- Los edulcorantes artificiales o no nutritivos no se asociaron directamente con el desarrollo de Diabetes *mellitus* tipo II. Sin embargo, sí se relacionaron con los consumidores de este tipo de edulcorantes fueran propensos a tener una dieta que genere obesidad y las complicaciones que esta conlleva

- Puntualmente, el aspartame genera un aumento de tejido adiposo en el hígado y conlleva consecuencias relacionadas con el síndrome metabólico

### **Alteraciones conductuales**

- El Aspartame puede generar el aumento de nerviosismo y ansiedad, al igual que la sacarina puede acentuar éstos síntomas
- La sacarina puede atenuar los síntomas de depresión en ratones diabéticos
- La sucralosa y acesulfame de K desequilibran la cantidad de diferentes neurotransmisores cerebrales lo que conlleva a presentarse diferentes alteraciones emocionales.

### **Alteraciones tisulares**

- El aspartame actúa como estresante químico que puede afectar la función del tejido cardíaco con un tiempo de exposición largo, así como también induce angiogénesis siendo este un proceso importante para el crecimiento tumoral en casos de cáncer

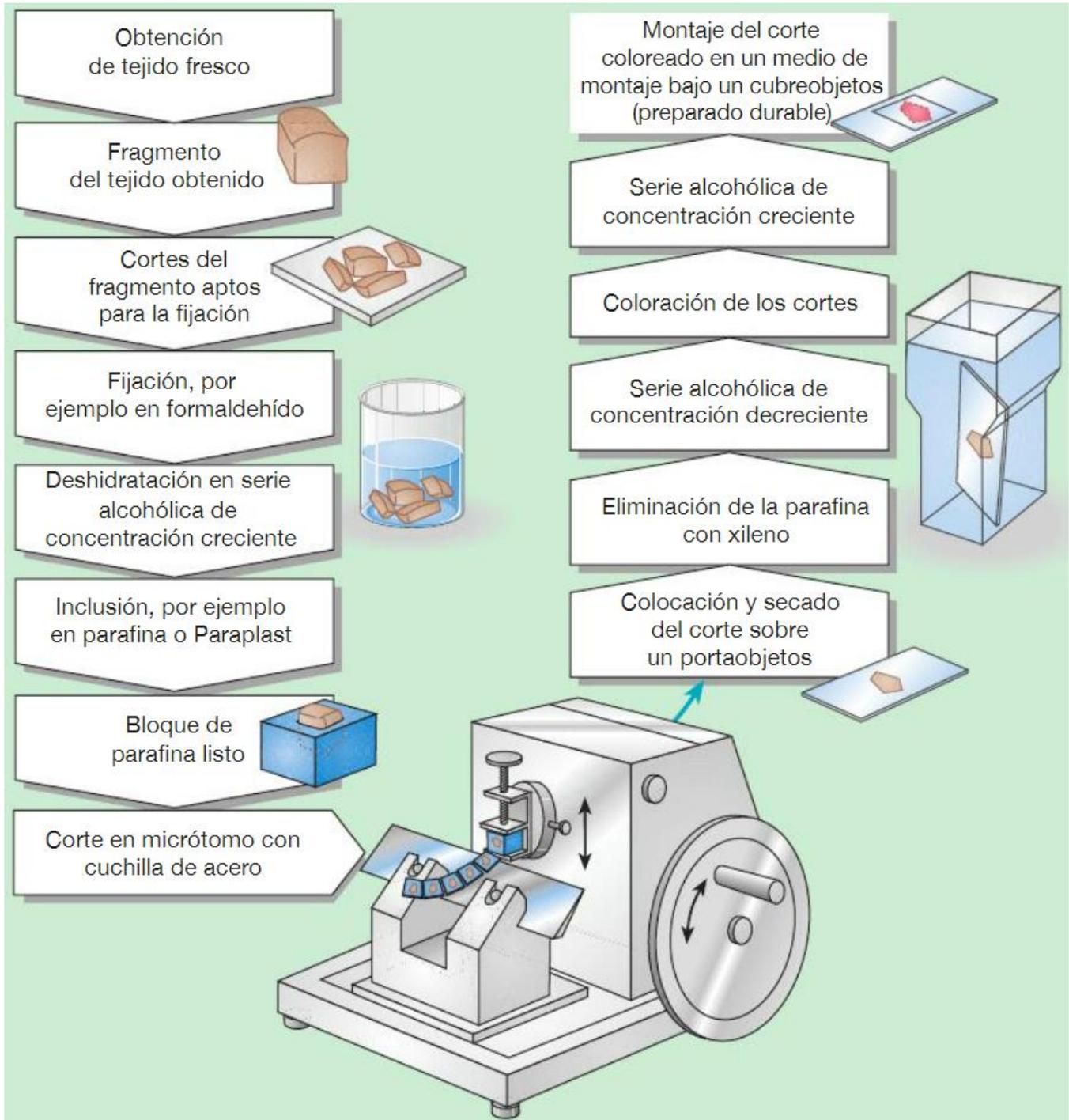
Asimismo, con base en estas conclusiones se sugieren las siguientes recomendaciones.

## **5.2. Recomendaciones**

- ✓ Se recomienda realizar una investigación acerca de la relación que existe entre la salud general de la población nacional y mundial frente al consumo de edulcorantes no nutritivos o artificiales
- ✓ Se debe de verificar si la normativa de México tiene fundamentos científicos sobre los cuales basarse para descartar completamente los daños que pueda ocasionar a la salud el consumo de estos aditivos alimentarios

- ✓ Es deseable buscar fuentes donde se utilicen diferentes aditivos alimentarios y la combinación de éstos para descartar que la sinergia con los edulcorantes bajo estudio son inocuos la salud de los individuos.

Anexo 1. Diagrama de flujo para la realización de la preparación de las tinciones en tejido renal y hepática de 80 ratas macho y 80 ratas hembra de la estirpe Wistar. (Welsh, 2014a)



## BIBLIOGRAFÍA

- Abo-EL-Sooud, K., Hashem, M.M., Badr, Y.A., Eleiwa M.M, E., Gab-Allaha, A.Q., Abd-Elhakim, Y.M., Bahy-EL-Dien, A. 2018. Assessment of hepato-renal damage and genotoxicity induced. *Environmental Science and Pollution Research*. 25 (26): 26341-26350. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2665-z>
- Abu-Taweel, G.M. 2016. Effect of monosodium glutamate and aspartame on behavioral and biochemical parameters of male albino mice. *African Journal of Biotechnology*. 15(15): 601-612. <http://dx.doi.org/10.5897/AJB2015.15199>
- Ahmad, S.I., Imam, S.K. 2016. Obesity and Diabetes. En *Obesity: A practical guide*, Ahmad, S.I. eds. Springer, 1ª edición, pp. 117-130. Nottingham, Reino Unido.
- Ali-Yassin, M., Hassan-Sadek, A.M., Ahmed-Mohamed, Z., Ramadan-Fawzy, M. 2019. Effect of food colorants and additives on the hematological and histological characteristics of albino rats. *Toxicology and Environmental Health Sciences*. 11(2): 155-167. <https://doi.org/10.1007/s13530-019-0400-x>
- Alonso, J.R. 2010. Edulcorantes naturales. *La Granja*, 12(2), 3-12.
- Alwaleedi, S.A. 2016. Alterations in antioxidant defense system in hepatic and renal tissues of rats following aspartame intake. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. 4(02): 046-052. <https://dx.doi.org/10.7324/JABB.2016.40207>
- Arévalo-Gómez, M.A. 2013. Anatomía del riñón. En *Nefrología clínica*, Arias-Rodríguez, M., Aljama-García, P., Egido-de-los-Ríos, J., Lamas-Peláez, S., Praga, M., Serón, D., eds. 4ª edición., pp. 13-20. Editorial Médica Panamerica. Santander, España.
- Departamento de Biología Celular y Tisular. 2021. Atlas digital de histología. Facultad de Medicina, UNAM. [En línea] Recuperado de ([http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/atlas\\_histo/tomo\\_i/INICIO-CD-2004-A\\_archivos/page0001.htm](http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/atlas_histo/tomo_i/INICIO-CD-2004-A_archivos/page0001.htm)). [Fecha de consulta 10/11/2021]

- Bahena-Trujillo, R., Flores, G., Arias-Montaña, J.A. 2000. Dopamina: Síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Revista Biomédica*. 11: 39-60. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v11i1.218>
- Barragán-Lizano, J.L. 2021. Técnicas de tinciones especiales para el estudio de patologías en tejidos humanos. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.
- Brusco, H.A., López-Costa, J.J., Loidl, C.F. 2014. Técnica histológica. En *Histología médico-práctica*. Brusco, H.A., López-Costa, J.J., Loidl, C.F., eds. 1ª edición., pp. 43-64. Elsevier. Barcelona, España.
- Bueno-Hernández, N., Esquivel-Velázquez, M., Alcántara-Suárez, R., Gómez-Arauz, A.Y., Espinosa-Flores, A.J., de León-Barrera, K.L., Mendoza-Martínez, V.M., Sánchez-Medina, G.A., León-Hernández, M., Ruiz-Barranco, A., Escobedo, G., Meléndez, G. 2020. Chronic sucralose consumption induces elevation of serum insulin in young healthy adults: A randomized, double blind, controlled trial. *Nutrition Journal*. 19(1): 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12937-020-00549-5>
- Burke, M.V., Small, D.M. 2015. Physiological mechanisms by which non-nutritive sweeteners may impact body 'weight'<sup>3</sup> and metabolism. *Physiology & Behavior*. 1: 152 (Part B): 381-388. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.05.036>
- Caballería, Ll., Saló, J., Berzigotti, A., Planas, R., Vila, C., Huertas, C., Torres, M., Torán, P., Caballería, J. 2014. Hígado graso no alcohólico. Documento de posicionamiento de la Sociedad Catalana de Digestología. *Gastroenterología y Hepatología*. 37 (6): 372-383. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gastrohep.2014.03.005>
- Cárdenas-Suárez, L.D. 2014. Los neurotransmisores en el funcionamiento del cuerpo humano y las emociones. Propuesta didáctica para estudiantes de Ciclo IV. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia.

---

<sup>3</sup> Weight: Se traduce como el peso, pero se refiere a la masa que un cuerpo tiene.

- Carretero, A., Ruberte, J., Navarro, M., Nacher, V., Espada, Y. 2017. Urinary organs. En *Morphological mouse phenotyping: Anatomy, histology, and imaging*. Ruberte, J., Carretero, A., Navarro, M., eds. 1ª edición., pp. 89-146. Editorial Médica Panamericana. Barcelona, España.
- Carvajal-Carvajal, C. 2017. El endotelio: Estructura, función y disfunción endotelial. *Medicina Legal de Costa Rica*. 34(2): 1-11.
- Crézé, C., Candal, L., Cros, J., Knebel, J.F., Seyssel, K., Stefanoni, N., Schneider, P., Murray, M.M., Tappy, L., Toepel, U. 2018a. The impact of caloric and non-caloric sweeteners on food intake and brain responses to food: A randomized crossover-controlled trial in healthy humans. *Nutrients*. 10 (615): 1-17. <https://doi.org/10.3390/nu10050615>
- Crézé, C., Notter-Bielserb, M.L., Knebel, J.F., Campos, V., Tappy, L., Micah-Murray, L.T., Toepel, U. 2018b. The impact of replacing sugar-by artificially sweetened beverages on brain and behavioural responses to food viewing-An exploratory study. *Appetite*. 123: 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.12.019>
- Cherón, J., Marchal, A., Fiorucci, S. 2019. Natural Sweeteners. En *Encyclopedia of Food Chemistry, Volume 1*. Melton, L., Shahidi, F., Varelis, P., eds. 1ª edición., pp.189-195. Elsevier. Amsterdam, Holanda (Países Bajos).
- Choudhary, A.K., Sundareswaran, L., Devi, R.S. 2016. Aspartame induced cardiac oxidative stress in Wistar albino rats. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 30: 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.nupar.2016.01.071>
- Collison, K.S., Inglis, A., Shibin, S., Andres, B., Ubungen, R., Thiam, J., Mata, P., Al-Mohanna, F.A. 2016. Differential effects of early-life NMDA receptor antagonism on aspartame-impaired insulin tolerance and behavior. *Physiology & Behavior*. 167: 209–221. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.09.011>
- Das, A., Chakraborty, R. 2016. Sweeteners: Classification, Sensory and Health Effects. *Encyclopedia of Food and Health*. 234-240. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00677-2>

- Daher, M.I., Matta, J.M., Abdel-Nour, A.M. 2019. Non-nutritive sweeteners and type 2 diabetes: ¿Should we ring the bell?. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 155(107786): 1-13.  
<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107786>
- DOF (2009). DIARIO OFICIAL (Primera Sección). Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. CUARTO. - Se modifica el encabezado de la tabla 13 para quedar como sigue: Tabla 21 - Reglas para la escritura de los números y su signo decimal. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México.
- Durán A., S., Cordón-A., K., Rodríguez-N., M. del P. 2013. Edulcorantes no nutritivos, riesgos, apetito y ganancia de 'peso'<sup>4</sup>. *Revista Chilena de Nutrición*. 40(3): 309-314.
- Eroschenko, V.P. 2017. Connective tissue. En. Atlas of Histology with Functional Correlations. Eroschenko, V., Wolters Kluwer, 13ª edición, pp. 73-93. Philadelphia; EE. UU.
- Espinoza-Pérez, L.D., García-Sánchez, M. 2018. Estudios histológicos y bioquímicos en diferentes tejidos de 176 ratas macho y hembra de la cepa Wistar en relación con la ingesta de edulcorantes calóricos e hipocalóricos. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Ciudad de México, México.
- Gardner, C., Wylie-Rosett, J., Gidding, S.S., Steffen, L.M., Johnson-K, R., Reader, D., Lichtenstein, A. H., 2012. Nonnutritive sweeteners: Current use and health perspectives. *Diabetes Care*. 35 (8): 1798-1808.  
<https://doi.org/10.2337%2Fdc12-9002>
- Gartner, L. Hiatt, J. 2018. Sistema digestivo III. En Atlas en color y texto de histología. Gartner, L., Médica Panamericana, 6ª edición, pp. 356-379. Maryland: EE.UU.

---

<sup>4</sup> Peso: Se define como producto entre la masa, inercia del cuerpo y la aceleración gravitatoria ejercida por la tierra sobre este.

- Germano-Magalhães, P.C., Abadie-Guedes, R., Barbosa-da-Costa-Mendoca, M.A., Duarte de Souza, A., Araújo-Guedes, R.C. 2018. Behavioral and electrophysiological brain effects of aspartame on well-nourished and malnourished rats. *Metab Brain Dis.* 34: 651–658. <https://doi.org/10.1007/s11011-018-0361-9>
- Green, C., Syn, WK. 2019. Non-nutritive sweeteners and their association with the metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease: A review of the literature. *European Journal of Nutrition.* 58: 1785–1800. <https://doi.org/10.1007/s00394-019-01996-5>
- Guerrero-Alquicira, R., Rojas-Lemus, M., Fortoul-van-der-Goes, T.I. 2017. Técnica Histológica. En. *Histología y Biología celular.* Fortoul-van-der-Goes, T.I., ed. 3ª edición., pp. 11-17. McGraw- Hill Interamericana. Ciudad de México, México.
- Hodge, A.M., Bassett, J.K., Milne, R.L., English, D.R., Giles, G.G. 2018. Consumption of sugar-sweetened and artificially sweetened soft drinks and risk of obesity-related cancers. *Public Health Nutrition,* 1-9. <https://doi.org/10.1017/S1368980017002555>
- Inoue, K., Yoshida, M., Takahashi, M., Shibutani, M., Takagi, H., Hirose, M., Nishikawa, A. 2009. Induction of kidney and liver cancers by the natural food additive madder color in a two-year rat carcinogenicity study. *Food and Chemical Toxicology.* 47(6):184-191. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.10.031>
- Jatho, A., Marcos-Cambia, J., Seung-Kwon, M. 2021. Consumption of artificially sweetened soft drinks and risk of gastrointestinal cancer: A meta-analysis of observational studies. *Public Health Nutrition.* 24(18): 6122–6136. <https://doi.org/10.1017/s136898002100104x>
- Junqueira, L., Carneiro, J. 2015a. Órganos asociados con el tubo digestivo. En *Histología básica: Texto y atlas.* Carneiro, J., ed. 12ª edición., pp. 348-360. Editorial Médica Panamericana. São Paulo, Brasil.

- Junqueira, L., Carneiro, J. 2015b. Sistema urinario. En *Histología básica: Texto y atlas*. Carneiro, J., ed. 12ª edición., pp. 348-360. Editorial Médica Panamericana. São Paulo, Brasil.
- Kumar, M., Chail, M. 2019. Sucrose and saccharin differentially modulate depression and anxiety-like behavior in diabetic mice: Exposures and withdrawal effects. *Psychopharmacology*. 236: 3095- 3110.  
<https://doi.org/10.1007/s00213-019-05259-3>
- Leahy, M., Ratliff, J.C., Riedt, C.S., Fulgoni III, V.L. 2017. Consumption of low-calorie sweetened beverages compared to water is associated with reduced intake of carbohydrates and sugar, with no adverse relationships to glycemic responses: results from the 2001–2012. National Health and Nutrition Examination Surveys. *Nutrients*. 9 (928): 1-12.  
<https://doi.org/10.3390/nu9090928>
- Lerman-Garber, I., Brito-Córdova, G.X. 2015. Nutrición y enfermedades asociadas: Diabetes mellitus y nutrición. En *Nutriología médica*. Kaufer-Horwitz, M., Pérez-Lizaur, A., Arroyo, P., eds. 4ª edición., pp. 667-694. Editorial Médica Panamericana. Ciudad de México, México.
- Maris-Daniele, S., Picena, J.C., Montenegro, S.M., Tarres, M.C., Maris-Martínez, S. 2007. Hígado graso no alcohólico en ratas macho de una línea con diabetes genética. *Revista Electrónica de Biomedicina*. 3: 29-39.
- Mariscal-Ramirez, L.A, Alberú-Gómez, J.M., Amato-Martínez, J.D., Bochicchio-Ricardelli, T., Campos-González, I.D., Cervera-Saldaña, V.R., Chew-Wong, A., Espinosa-Marrón, A., Medeiro-Domingo, M., Molina-Segui, F., Muñoz-Arizpe, R., Laviada-Molina, H. 2019. Edulcorantes no calóricos y enfermedad renal: Análisis de la evidencia. *Nefrología Latinoamericana*. 16 (2): 46-57.  
<https://doi.org/10.24875/NEFRO.19000100>
- Mendoza-Pérez, S., Guzmán-Gómez, M.B., García-Gómez, R.S., Ordaz-Nava, G., Gracia-Mora, M.I., Macías-Rosales, L., Morales-Rico, H., Salas-Gárrido, G., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. 2020. Effects on weaned male Wistar rats after 104, 197, and 288 days of chronic consumption of

nutritive and non-nutritive additives in water. *Journal of Food Science Technology*. 58(6), 1-11.

<https://doi.org/10.1007/s13197-020-04746-2>

- Meza, E. 2021. Métodos de tinción selectiva en tejidos y líquidos corporales. [En línea] Recuperado de: <https://www.studocu.com/es-mx/document/universidad-juarez-del-estado-dedurango/histologia/metodos-de-tincion-selectiva-en-tejidos-y-liquidos-corporales/20166266> ) [Fecha de consulta 26/08/2022].
- Montuenga-Badía, L. Bodegas-Frías, M., de Andrea, C., Esteban-Ruiz, F. 2014. Técnicas de tinción en histología. En Técnicas en histología y biología celular. Montuenga-Badía, L., Esteban-Ruiz, F.J., Calvo-González, A., eds. 2ª edición., pp.61-84. Elsevier. Navarra, España.
- Navarro, M., Cameán, A.M. 2012. Conceptos y clasificación. En. Aspectos bromatológicos y toxicológicos de los edulcorantes. Navarro, M. Ediciones Díaz de Santos, 2ª edición, pp. 475- 491. Madrid, España.
- Navarro, M., Ruberte, J., Carretero, A., Nacher, V., Dominguez, E. 2017. Digestive tract. En Morphological mouse phenotyping: Anatomy, histology, and imaging. Ruberte, J., Carretero, A., Navarro, M., eds. 1ª edición., pp. 89-146. Editorial Médica Panamericana. Barcelona, España.
- 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>
- Ponce, S. 2016. Histología: Generalidades. En Histología básica: Fundamentos de biología celular y del desarrollo humano. Ponce, S. Ed. Médica Panamericana. 1ª edición, pp. 1-16. Buenos Aires, Argentina.
- Prokić, M.D., Paunović, M.G., Matic, M.M., Djordjevic, N.Z., Ognjanović, B.I., Stajin, A.S., Saicic, Z.S. 2015. Effect of aspartame on biochemical and oxidative stress parameters in rat blood. *Arch Biol Sci*. 67(2): 535–545. <https://doi.org/10.2298/ABS141009016P>
- Restrepo, C., Parra, C. 2009. Anatomía y fisiología renal.

(<http://asocolnef.com/wp-content/uploads/2018/12/ANATOMIA-Y-FISIOLOGIA-RENAL.pdf>). [Fecha de consulta: 23 /03/2021]

- Reyes-Asto, M.A. 2017. Edulcorantes artificiales en la industria alimentaria. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Trujillo, Perú.
- Risdon, S., Meyer, G., Marziou, A., Riva, C., Roustit, M., Walter, G. 2020. Artificial sweeteners impair endothelial vascular reactivity: Preliminary results in rodents. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 30: 843-846.  
<https://doi.org/10.1016/j.numecd.2020.01.014>
- Romaguera, D., Norat, T., Wark, P., Vergnaud, A., Schulze, M., van Woudenberg, G., Drogan, D., Amiano, P., Molina-Montes, E., Sánchez, M., Balkau, B., Barricarte, A., Beulens, J., Clavel-Chapelon, F., Crispim, S., Fagherazzi, G., Franks, P., Grote, V., Huybrechts, I., Kaaks, R., Key, T., Khaw, K., Nilsson, P., Overvad, K., Palli, D., Pánico, S., Quirós, J., Rolandsson, O., Sacerdote, C., Sieri, S., Slimani, N., Spijkerman, A., Tjonneland, A., Tormo, M., Tumino, R., van den Berg, S., Wermeling, P., Zamara-Ros, R., Feskens, E., Langenberg, C., Sharp, S., Forouhi, N., Riboli, E., Wareham, N. 2013. Consumption of sweet beverages and type 2 diabetes incidence in European adults: results from EPIC-InterAct. *Diabetologia*. 56(7): 1520–1530. <https://doi.org/10.1007/s00125-013-2899-8>
- Ross, M., Wojciech, P. 2012a. Sistema digestivo III: Hígado, vesícula biliar y páncreas. En *Histología: Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular*. Ross, M., Wojciech, P., eds. 7ª edición., pp. 677-713. Editorial Médica Panamericana. Gainesville, EE. UU.
- Ross, M., Wojciech, P. 2012b. Sistema urinario. En *Histología: Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular*. Ross, M., Wojciech, P., eds. 7ª edición., pp. 677-713. Editorial Médica Panamericana. Gainesville, EE.UU.

- Salgado-Maldonado, G., 2007. Manual de prácticas de parasitología con énfasis en helmintos parásitos de peces de agua dulce y otros animales silvestres de México.  
([http://www.ibiologia.unam.mx/pdf/directorio/s/salgado/manual/manual\\_prac\\_parasitol.pdf](http://www.ibiologia.unam.mx/pdf/directorio/s/salgado/manual/manual_prac_parasitol.pdf)). [Fecha de consulta 09/ 08/ 2022].
- Saraiva, A., Carrascosa, C., Raheem, D., Ramos, F., Raposo, A. 2020. Natural Sweeteners: The Relevance of Food Naturalness for Consumers, Food Security Aspects, Sustainability and Health Impacts. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 17 (6285): 1-22.  
<https://doi.org/10.3390/ijerph17176285>
- Santos-Vidal, S. 2017. Tinción hematoxilina-eosina. Tesis de Maestría Universidad Nacional de Educación a Distancia, Facultad de Ciencias. Madrid, España.
- Schiano, C., Grimaldi, V., Boccella, S., Iannotta, M., Zullo, A., Luongo, L., Mancini, F.P., Maione, S., Napoli, C. 2019. Sweeteners modulate bioactivity of endotelial progenitor cells but not induce detrimental effects both on inflammation and behavioural changes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 70 (6): 725–737.  
<https://doi.org/10.1080/09637486.2018.1563052>
- Schwartzmann-Rojas, R. 2002. Angiogénesis y cáncer. Curso Teórico y Seminarios de Oncología Básica, Centro de Oncología Preventiva de la Universidad de Chile.  
(<https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/PuestaDia/Cursos/3171>). [Fecha de consulta 12/05/2022].
- Shankar, P., Ahuja, S., Sriram, K. 2013. Non-nutritive sweeteners: Review and update. *Nutrition*. 29:1293–1299.  
<https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.03.024>
- Sibulesky, L. 2013. Anatomía normal del hígado. *Clinical Liver Disease*. 2(S4): S61Š–S63Š. <https://doi.org/10.1002/cld.124>
- Sobrado-de-Vicente-Tutor, A., Ruiz-Gómez, M. 2013. Estructura y función del Riñón. En *Nefrología clínica*. Arias-Rodríguez, M., Aljama-García, P.,

- Egido-de-los-Ríos, J., Lamas-Peláez, S., Praga, M., Serón, D., eds. 4ª edición., pp. 3-12. Editorial Médica Panamericana. Santander, España.
- Stephens-Camacho, N.A., Valdez-Hurtado, S., Lastra-Zavala, G., Félix-Ibarra, L.I. 2018. Consumo de edulcorantes no nutritivos: efectos a nivel celular y metabólico. *Perspectivas en Nutrición Humana*. 20: 185-202. <http://dx.doi.org/10.17533/udea.penh.v20n2a06>
  - 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*. 514(7521): 181–186. <https://doi.org/10.1038/nature13793>
  - Sylvetsky, A., Abdelhadi, J., Issa, N., Rother, K. 2018. Nonnutritive sweeteners and their role in the gastrointestinal tract. En. *Sweeteners: Pharmacology, biotechnology and applications*. Mérrillon, J., Ramawat, K., eds. 1ª edición., pp. 377-392. Springer. Nueva York, EE.UU.
  - Verdín-Terán, S., Moreno-Fierros, L., Rojo-Botello, N., García-Hernández, A., Omaña-Molina, M., Meneses-Aguirre, A., Nieto-Yáñez, O. 2013. *Histología e Inmunohistoquímica: Manual de métodos*. (<https://antares.iztacala.unam.mx/papime/?p=166>). [Fecha de consulta 10/08/2022].
  - Vidal-Riella, L., Vidal-Riella, C., Riella, M. 2015. Nociones de fisiología y anatomía renales. En *Nutrición y riñón*. Riella, M., Martins, C., eds. 2ª edición., pp. 3-24. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
  - Welsh, U. 2014a. Terminología, microscopía y técnica histológica. En *Sobotta: Histología*. Deller, T., ed. 3ª edición., pp. 1-12. Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
  - Welsh, U. 2014b. Sistema Digestivo. En *Sobotta: Histología*. Deller, T., ed. 3ª edición., pp. 291-346. Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.

- Welsh, U. 2014c. Sistema Urinario. En Sobotta: Histología. Deller, T., ed. 3ª edición., pp. 383-402. Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Winther, R., Aasbrenn, M., Farup, P.G. 2017. Intake of non-nutritive sweeteners is associated with an unhealthy lifestyle: A cross-sectional study in subjects with morbid obesity. *BMC Obesity*. 4 (41): 1-9. <https://doi.org/10.1186/s40608-017-0177-x>
- Yarmolinsky, J., Duncan, B.B., Chambless, L.E., Bensenor, I.M., Barreto, S.M., Goulart, A.C., Santos, I.S., Sander-Diniz, M.F., Schmidt-Inês, M. 2016. Artificially sweetened beverage consumption is positively associated with newly diagnosed diabetes in normal weight but not in overweight or obese brazilian adults. *The Journal of Nutrition: Nutritional Epidemiology*. 146(2): 1-8. <https://doi.org/10.3945/jn.115.220194>
- Yin, K-J., Xie, D-Y., Zhao, L., Fan, G., Ren, J-N., Zhang, L-L., Pan, S-Y. 2019. Effects of different sweeteners on behavior and neurotransmitters release in mice. *Journal of Food Science Technology*. 57 (1): 113–121. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04036-6>
- Yunker, A. G., Patel, R., Page, K. A. 2020. Effects of non-nutritive sweeteners on sweet taste processing and neuroendocrine regulation of eating behavior. *Current Nutrition Reports*. 9(3): 278-289. <https://doi.org/10.1007/s13668-020-00323-3>