

Efecto del consumo crónico de edulcorantes naturales y artificiales en la ganancia de masa corporal en ratas macho

Mendoza-Pérez, S.^{a*}, Reyes-Díaz, C. A.^a, Pérez-Rico J. M.^a, García-Gómez, R. S.^a, Ordaz-Nava, G.^b, Gracia-Mora, M. I.^c, Macías-Rosales, L.^c, Morales-Rico, H.^c, Salas-Garrido, G.^d, Durán-Domínguez-de-Bazúa, M. C.^a

a UNAM, Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química, Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental. Conjunto E, Edificio E-3 Alimentos y Química Ambiental, Laboratorios 301, 302, 303, Circuito de la Investigación Científica s/n, Ciudad Universitaria. 04510 Ciudad de México, México.

b Departamento de Fisiología de la Nutrición, Área de Nutrición Molecular, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, INCMNSZ. 14030 Ciudad de México, México.

c UNAM, Unidad de Experimentación Animal, UNEXA, Facultad de Química, Conjunto E, Circuito de la Investigación Científica s/n, Ciudad Universitaria, 04510 Ciudad de México, México

d UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Histología, Circuito de la Investigación Científica s/n, Ciudad Universitaria, 04510 Ciudad de México, México.

RESUMEN:

El uso de edulcorantes naturales y artificiales ha experimentado un auge. Algunos expertos piensan que elevadas dosis de edulcorantes podrían producir efectos nocivos para la salud a largo plazo. En esta investigación se planteó evaluar los efectos del consumo crónico de edulcorantes naturales y artificiales sobre el incremento de masa corporal en ratas macho. Las concentraciones de los edulcorantes suministrados fueron: sacarosa 10%, fructosa 7%, aspartame 0.3%, sucralosa 0.19%, sacarina 0.3%, acesulfame K 0.015% y la mezcla de aspartame con acesulfame 1:1 al 0.04%. Se tuvieron 5 especímenes en cada grupo. Diariamente fueron cuantificados la ganancia de masa corporal y los consumos de alimento y de bebida. Después de 104 días se realizó la eutanasia y se determinaron los niveles séricos de glucosa, triglicéridos y colesterol. Existió diferencia significativa ($p=0.0495$) en la ganancia de masa corporal, presentando el grupo de sacarosa el menor incremento. También, existieron diferencias significativas en el volumen de bebida ($p<0.0001$). El grupo de sacarosa ingirió la menor cantidad de bebida. Asimismo, la cantidad de alimento ingerido difirió entre los grupos ($p=0.0004$), siendo el grupo de la sacarosa el único que consumió una menor cantidad que el control. No hubo diferencias significativas en los parámetros bioquímicos evaluados.

ABSTRACT:

The use of natural and artificial sweeteners has experienced a boom. Some experts think that high doses of sweeteners could have harmful long-term health effects. In this research it was proposed to evaluate the effects of the chronic consumption of natural and artificial sweeteners on the increase of corporal mass in male rats. The concentrations of the supplied sweeteners were: sucrose 10%, fructose 7%, aspartame 0.3%, sucralose 0.19%, saccharin 0.3%, acesulfame K 0.015% and the mixture of aspartame with acesulfame 1:1 at 0.04%. There were 5 specimens in each group. The body mass gain and the consumption of food and drink were quantified daily. Euthanasia was performed after 104 days and the serum glucose, triglycerides and cholesterol levels were determined. There was a significant difference ($p = 0.0495$) in body mass gain, the sucrose group had the smallest increase. Also, there were significant differences in the volume of beverage ingested ($p < 0.0001$). The sucrose group ingested the least amount of beverage. Also, the amount of food ingested differed between the groups ($p = 0.0004$), being the sucrose group the only one that consumed a smaller amount than the control. There were no significant differences in the biochemical parameters evaluated.

Palabras clave: Ganancia de masa corporal, edulcorantes naturales, edulcorantes artificiales, obesidad, ingesta de alimento.

Key words: Body mass gain, natural sweeteners, artificial sweeteners, obesity, food intake.

Área: Nutrición y nutraceuticos

INTRODUCCIÓN

La obesidad es una enfermedad compleja de etiología multifactorial. Se han señalado vínculos entre el excesivo consumo de comidas rápidas y alimentos procesados ricos en grasas y glúcidos y el desarrollo de sobrepeso y/u obesidad. Así mismo se ha relacionado el excesivo consumo de bebidas carbonatadas con el desarrollo de la obesidad (Drewnowski, 2007). Como una alternativa para conservar el sabor dulce de los alimentos y bebidas, pero sin comprometer una mayor ingesta energética fueron desarrollados los edulcorantes artificiales. Sin embargo, se ha sugerido que el consumo de productos que contienen edulcorantes de alta intensidad puede estar relacionado con una mayor prevalencia de la obesidad (Fowler, 2016; Fowler et al., 2008; Fowler et al., 2015; Swithers, 2013). Así mismo, se ha relacionado que el consumo crónico de un desbalance sabor dulce/calorías, desencadena diversas respuestas como son: a) aumento en la motivación para comer, b) un balance de energía positivo, c) una débil relación predictiva entre el sabor dulce y las consecuencias calóricas y d) un incremento en la masa corporal (Davidson et al., 2011; Swithers et al., 2009; Swithers & Davidson, 2008; Wang et al., 2016; Yang, 2010). Diversos estudios indican que el consumo de bebidas endulzadas con edulcorantes artificiales de alta intensidad están asociados a una mayor presencia de riesgos como el desarrollo de la diabetes tipo II, el síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares (Bhupathiraju et al., 2013; Cohen et al., 2012; Fagherazzi et al., 2013; Gardener et al., 2012; Nettleton et al., 2009; Sakurai et al., 2014).

Una serie de experimentos (Swithers & Davidson, 2008) demostró que la sacarina podría reducir la efectividad del aprendizaje asociado entre el sabor dulce y la liberación energética post-ingesta, teniendo como consecuencia un incremento en la masa corporal. Estudios similares realizados por Feijó et al. (2013) demostraron que la sacarina y el aspartame incrementaban la ganancia de masa corporal en comparación con la sacarosa, pero sin existir diferencias en la ingesta energética. Lo anterior fue corroborado posteriormente por los estudios de Foletto et al., (2016) quienes demostraron que la sacarina indujo una mayor ganancia de masa corporal aún sin incrementar la ingesta energética. Experimentos previos de administración de edulcorantes en agua potable realizados por Martínez et al. (2010) encontraron tendencias similares, siendo las ratas macho que ingerían sacarosa las que presentaban las menores ganancias de masa corporal en comparación con la fructosa y dos edulcorantes artificiales, aspartame y sucralosa e incluso el control de agua potable.

Otros probables efectos adversos asociados al consumo crónico de edulcorantes artificiales son las alteraciones de la microbiota intestinal. Los experimentos Suez et al. (2014) demostraron que el consumo de sacarina promovió el desarrollo de intolerancia a la glucosa a través de la inducción de alteraciones de la composición y función de la microbiota intestinal. Por su parte, Palmnäs et al. (2014) demostraron que el consumo de aspartame modificaba la composición de la microbiota incrementándose la abundancia de *Enterobacter spp.* y *Clostridium leptum*.

Ante todo esto, la controversia persiste, ya que algunos estudios muestran que el consumo de edulcorantes no tiene ningún impacto sobre la ganancia de masa corporal (Boakes et al., 2016; Markey et al., 2016; Rogers et al., 2015) y no tienen efecto sobre alguno sobre la saciedad (Anton et al., 2010; Sylvestsky et al., 2016). Otras investigaciones indican que la interferencia predictiva entre el sabor dulce y las calorías sólo ocurre en dietas dulces (Davidson et al., 2011). Esto hace que el efecto de los edulcorantes artificiales sobre la ganancia de masa corporal y el apetito aun no sean concluyentes de manera irrefutable.

Es por ello que el objetivo principal del presente estudio fue evaluar el efecto de la ingesta de edulcorantes calóricos y no calóricos consumidos “*ad libitum*” sobre la ganancia de masa corporal de un modelo animal (ratas macho de la cepa Wistar) desde el destete durante 104 días que es la etapa de crecimiento exponencial de los especímenes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Para este estudio se emplearon ratas Wistar macho (n=40) recién destetadas con una masa corporal entre 35 a 45g al inicio de la prueba. Se distribuyeron de manera aleatoria empleando el método conocido como culebra japonesa en 8 grupos: aspartame (ASP), acesulfame de K (ACE), mezcla de aspartame con acesulfame (MIX), sacarina (SAC), sucralosa (SUL), sacarosa (SUC), fructosa (FRU) y grupo control (CON). Los animales fueron alojados

individualmente en cajas de polisulfonato, con una humedad entre 65-70%, ventilación y temperatura (22 ± 1 °C) controladas. Se mantuvo un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Con la finalidad de minimizar el impacto debido a la actividad física, se colocaron en cajas de polisulfonato de 42.5 X 26.6 X 20 cm durante los 104 días de experimentación. Los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con los principios de la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio del National Research Council (National Research Council, 2011) en concordancia con la legislación mexicana: Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (DOF, 1999). El protocolo fue autorizado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio, de la Facultad de Química de la UNAM.

Bebidas endulzadas con edulcorantes

Las bebidas suministradas tuvieron las siguientes concentraciones: acesulfame 0.015%, aspartame 0.3%, mezcla de aspartame 0.04% con acesulfame K 0.04%, sacarina 0.033%, sucralosa 0.19%, sacarosa 10% y fructosa 7%, la cual se redujo ya que en experimentos anteriores se había mantenido el mismo porcentaje que la sacarosa y éste se obtuvo por análisis de equidulzura (DOF, 1999) con respecto de una solución de sacarosa al 10% que se tomó como referencia. Todos los valores están por debajo de las ingestas diarias admisibles establecidos para cada uno de ellos. Las bebidas fueron suministradas sin ninguna restricción de horario ni de cantidad. Cada 24 horas se cuantificaba la cantidad ingerida y las bebidas eran repuestas con disoluciones recién preparadas.

Suministro de dieta

La dieta que fue suministrada a los 8 grupos durante los 104 días de experimentación fue la dieta Teklad Global 18S de la compañía Envigo (antes Teklad). Se trata de una dieta estándar para el correcto crecimiento de los roedores, los ingredientes en orden decreciente son: trigo molido, maíz molido, acemite de trigo, harina de soya descascarillada, harina de gluten de maíz, aceite de soya, carbonato de calcio, bifosfato de calcio, levadura seca de cerveza, sal yodada, lisina, metionina, clorhidrato de colina, caolín, complejo de bisulfito de sodio de medianona (fuente de vitamina K activa), óxido de magnesio, acetato de vitamina E, pantotenato de calcio, mononitrato de tiamina, óxido manganoso, niacina, sulfato ferroso, óxido de zinc, riboflavina, acetato de vitamina E, hidrocloreuro de piridoxina, sulfato de cobre, suplemento de vitamina B₁₂, ácido fólico, yodato de calcio, biotina, suplemento de vitamina D₃ y carbonato de cobalto. La dieta fue suministrada sin restricciones de horario ni de cantidad durante los 104 días de experimentación.

Cuantificación de la bebida ingerida, el alimento consumido, la energía ingerida y la masa corporal

El control de la ingesta de alimentos se llevó a cabo diariamente por la sustracción entre la cantidad de alimento restante (g) de la cantidad suministrada diariamente (100g). La cantidad de bebida ingerida fue igualmente determinada mediante sustracción de la cantidad remanente de la cantidad suministrada diariamente (250ml). Al igual que con el alimento, se evaluó la presencia de cualquier derrame que pudiese afectar los resultados. La energía ingerida se calculó a partir de los gramos de alimento consumido en aquellos grupos que consumieron edulcorantes no calóricos. El aporte energético de la dieta Teklad Global 18S fue de 13kj/g. Para los grupos que ingirieron edulcorantes calóricos el cálculo se realizó sumando la energía aportada por el alimento, así como por las bebidas ya que se consideró que el aporte calórico de los edulcorantes de alta intensidad era despreciable. El aporte energético de las bebidas calóricas fue el siguiente: para sacarosa al 10% fue 1.67 kj/ml y en el caso fructosa al 7% fue de 1.17kj/ml.

Las ratas fueron pesadas diariamente siempre a la misma hora y en el mismo orden, usando una balanza electrónica de precisión (SPE601, OHAUS™) en todas las determinaciones y lo largo de todo el periodo de experimentación.

Cálculo de consumo de alimento, bebida, energía ingerida y ganancia de masa acumulados

El alimento consumido acumulado, la bebida ingerida acumulada, la energía ingerida acumulada fueron calculados por la suma de los consumos diarios de cada uno de los parámetros. La ganancia de masa fue determinada diariamente por la sustracción de la masa basal.

Eutanasia

Tras 104 días de experimentación, después de un ayuno de 12h, se realizó la eutanasia. Para ello cada rata de manera individual fue colocada en una cámara rica en CO₂ (70% mínimo) y ya dormidas fueron decapitadas con una guillotina para roedores. Todos los procedimientos experimentales fueron conducidos con ética y bajo los principios de la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio (National Research Council, 2011) y en concordancia con la legislación mexicana: Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (DOF, 1999).

Determinaciones bioquímicas en suero

Al finalizar la experimentación, las muestras de sangre fueron recolectadas en tubos específicos con gel separador (SST 368159, BD Vacutainer) con la ayuda de embudos individuales. Se dejaron reposar durante 30 minutos para permitir la coagulación, posteriormente los tubos fueron centrifugados a 3000 rpm durante 15 minutos. El suero colectado fue almacenado en tubos de microcentrífuga de 2 ml (Eppendorf) e inmediatamente fue congelado a -70°C, para su posterior análisis. Las concentraciones séricas de glucosa, triglicérido y colesterol total fueron determinados a través del analizador automático Cobas C111 de la marca Roche. Todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se realizaron empleando el software statgraphics Centurion XVI (statpoint Technologie, Inc, Warrenton, VA, US), y las gráficas fueron generadas usando el software grandpad Prism 6 (graphpad Software Inc., La Jolla, CA, US). El diseño experimental realizado fue de tipo unifactorial de tipo categórico. Los datos experimentales obtenidos fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Como análisis “post hoc” para identificar las diferencias entre grupos se utilizó el test de Duncan. Los supuestos de normalidad y homocedasticidad fueron verificados con el test de Shapiro-Wilk y el test de Levene, respectivamente. En todas las pruebas se reportan la media y el intervalo de confianza (IC) al 95% y en todos los análisis se tomó el nivel de significancia de $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ganancia de masa corporal acumulada

La ganancia de masa corporal de los distintos grupos se muestra en la Fig. 1. El análisis de ANOVA indicó la existencia de diferencias significativas ($p = 0.0009$). La prueba de rangos múltiples por el método de Duncan (Tabla I) indicó que el único grupo que difirió del control fue el que ingirió sacarosa al 10%.

Tabla I. Contraste de rangos múltiples por el método de Duncan para la media del incremento de masa corporal tras los 104 días después del destete

Edulcorante	Intervalo de confianza de la media al 95% de confianza	Contraste
Sacarosa	295.6 g – 335.9 g	E
Sucralosa	300.5 g – 337.2 g	DE
Acesulfame K	303.4 g – 343.7 g	CDE
Aspartame	326.7 g – 366.9 g	BCDE
Control	341.7 g – 381.9 g	ABCD
Sacarina	344.1 g – 384.4 g	ABC
Mezcla ace:asp	365.7 g – 410.7 g	AB
Fructosa	374.5 g – 414.7 g	A

Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas entre los grupos ($\alpha=0.05$)

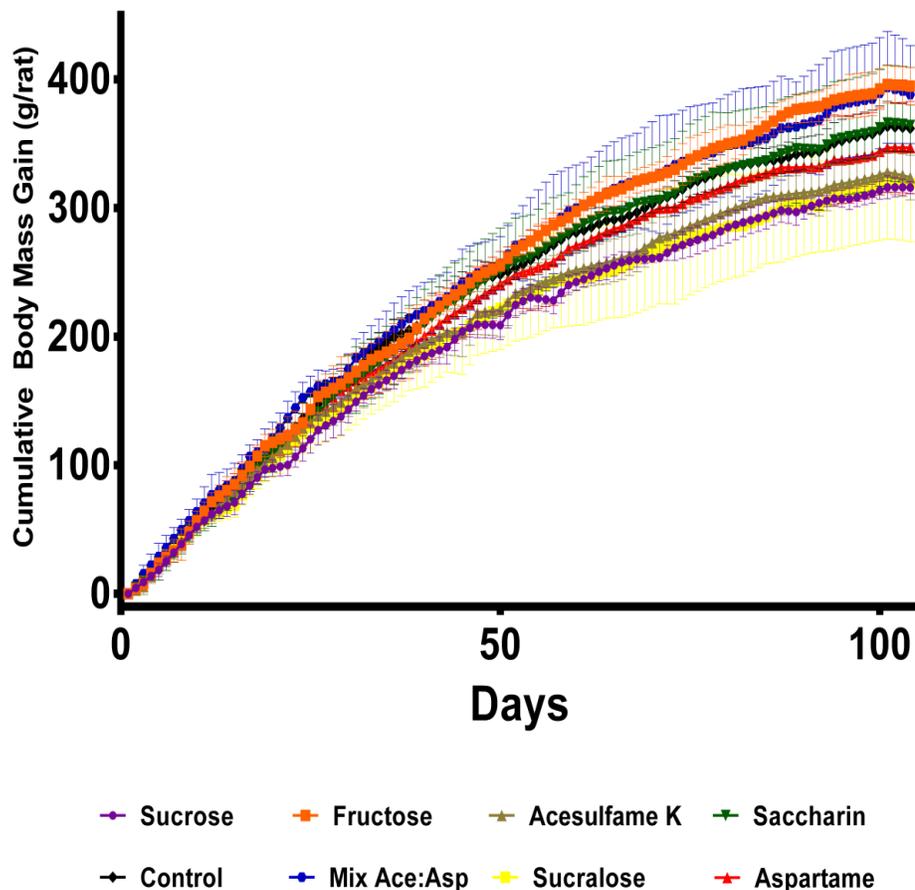


Figura 1. Ganancia de masa corporal (g/rata) en un periodo de 104 días después del destete en función del edulcorante ingerido. Cada línea representa la tendencia en el periodo evaluado donde cada punto comprende al promedio de ganancia de masa corporal y su IC al 95%, n=8

Alimento consumido

El alimento consumido en promedio diariamente de las ratas se muestra en la Fig. 2.A. Como se aprecia existe una gran variabilidad entre cada día. Sin embargo, de manera general el consumo se incrementaba hasta aproximadamente el día 15, a partir de este punto se mantiene constante el consumo de alimento. En la Figura 2B se muestra el alimento consumido acumulado para cada grupo de edulcorante. Se aprecia que existió una diferencia significativa en la cantidad de alimento consumido entre los grupos de edulcorantes ($p < 0.0001$). La prueba de rangos múltiples indicó que el único grupo que difirió del grupo control ($2,295 \pm 223$ g/rata) fue el grupo que ingirió sacarosa ($1,474 \pm 132$ g/rata).

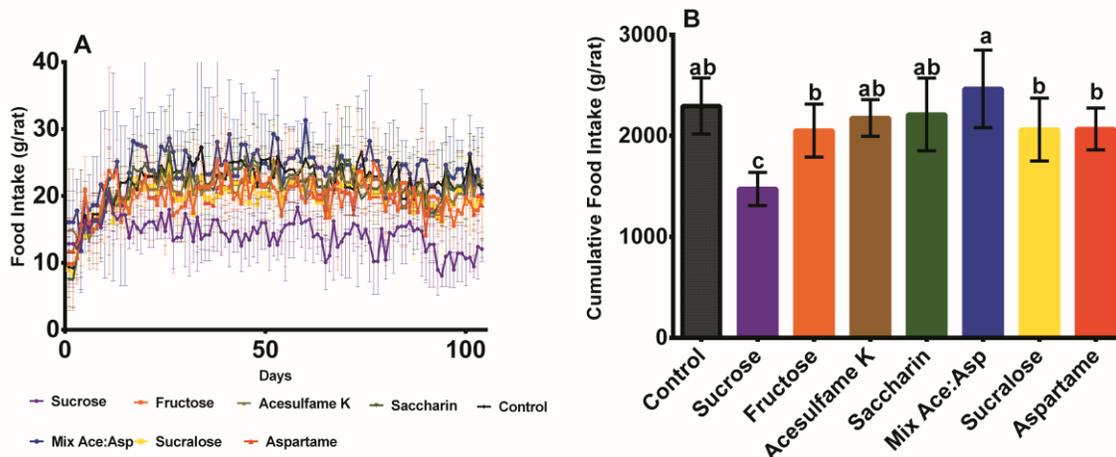


Figura 2. (A) Consumo de alimento (g/rata) en un periodo de 104 días en función del edulcorante consumido. Cada línea representa la tendencia en el periodo evaluado donde cada punto comprende al promedio de alimento consumido y su IC al 95%, n=8. (B) Alimento consumido acumulado por ratas en 104 días por tratamiento. Cada barra representa el promedio del consumo de alimento y su IC al 95%. Las siguientes letras indica diferencias significativas a una $p < 0.05$: a, b, c. Método de Duncan

Bebida ingerida

La cantidad de bebida ingerida resultó ser muy variable de un día a otro (Fig. 3A), sin embargo, se sigue la misma tendencia que la observaba con el alimento. Los primeros días hubo un incremento sostenido de la cantidad de bebida ingerida para después mantenerse en un rango estable. En la Fig. 3B se muestra la cantidad de bebida ingerida acumulada, el análisis de varianza ANOVA indicó la existencia de diferencias significativas $p < 0.0001$. La prueba de rangos múltiples indicó que los grupos que presentaron una mayor ingesta de bebida de forma significativa con respecto al grupo control ($4,413 \pm 458$ mL/rata) fueron los grupos de mezcla de aspartame: acesulfame K ($6,042 \pm 943$ ml/rata), fructosa ($7,471 \pm 616$ mL/rata) y sacarosa ($9,294 \pm 972$ mL/rata).

Ingesta energética

La ingesta energética acumulada se muestra en la Figura 4. El análisis de varianza (ANOVA) indicó la existencia de diferencias significativas a una $p = 0.0001$. La prueba de rangos múltiples indicó que únicamente los grupos de sacarosa (34692 ± 1318 kJ/rata) y de fructosa (35417 ± 1318 kJ/rata) ingirieron de manera significativa la mayor cantidad de energía comparados con el grupo control (29843 ± 1318 kJ/rata).

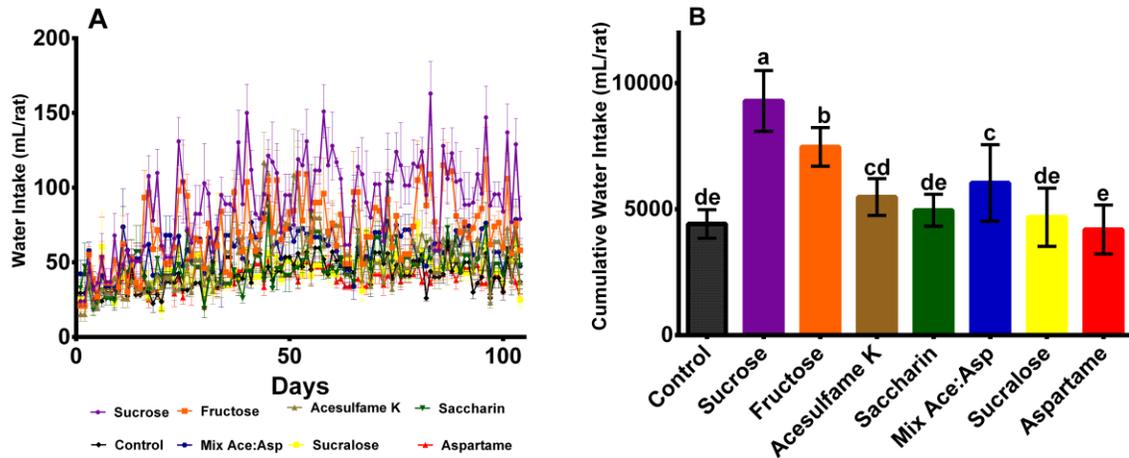


Figura 3. (A) Consumo de bebida (mL/rata) en un periodo de 104 días en función del edulcorante ingerido. Cada línea representa la tendencia en el periodo evaluado donde cada punto comprende al promedio de alimento consumido y su IC al 95%, n=8. (B) Bebida ingerida acumulada por ratas en 104 días por tratamiento. Cada barra representa el promedio del consumo de alimento y su IC al 95%. Las siguientes letras indica diferencias significativas a $p < 0.05$: a, b, c. Método de Duncan

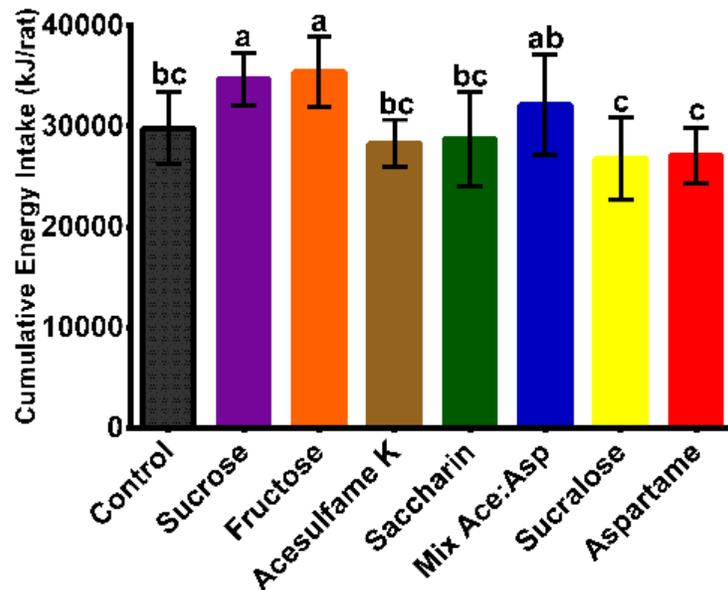


Figura 4 Ingesta energética acumulada por ratas que consumieron diversos edulcorantes en 104 días por tratamiento. Cada barra representa el promedio de la bebida ingerida y su IC al 95%. Las siguientes letras indica diferencias significativas a $P < 0.05$: a, b, c. Método de Duncan, n=8

Determinaciones bioquímicas en suero sanguíneo

Las concentraciones séricas de glucosa, triglicéridos y colesterol total fueron determinadas tras los 120 días de experimentación y tras un ayuno de 12 horas. Los niveles séricos de glucosa en ayuno se muestran en la Fig. 5A. El análisis estadístico indicó que no existieron diferencias significativas ($p = 0.29$) en los niveles séricos de glucosa en ayunas. Respecto a los niveles séricos de triglicéridos (Fig. 5B), el análisis de varianza indicó que no existieron diferencias significativas $p = 0.0835$, por lo que los niveles séricos de triglicéridos fueron independientes del edulcorante ingerido. Finalmente, el análisis de varianza correspondiente a los niveles de colesterol (Figura 5C)

indicaron que no existió diferencia significativa alguna $p = 0.5529$. Es decir, el edulcorante ingerido no influyó en los niveles de colesterol de estos especímenes en crecimiento.

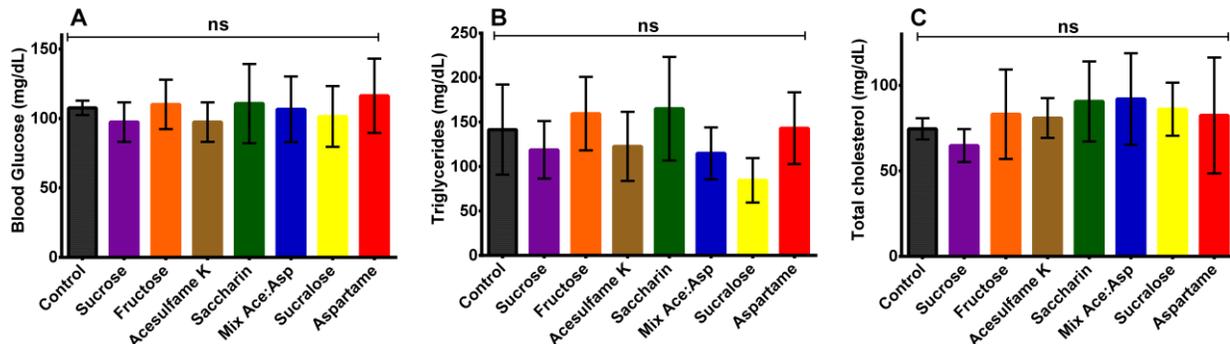


Figura 5. (A) Efecto del consumo de diversos edulcorantes, al final de 104 días, sobre los niveles séricos en ayuno de glucosa (A) machos, (B) triglicéridos y (C) colesterol total. Cada barra representa el promedio de la concentración sérica y su IC al 95%. ns= no hay diferencias significativas. Método de Duncan. $n=8$.

Discusión

Masa corporal

Los resultados de la presente investigación indicaron que las ratas Wistar que ingirieron la solución de fructosa al 7% presentaron las mayores ganancias de masa corporal (374.5 g – 414.7 g), aunque de acuerdo con la prueba de rangos múltiples ($p > 0.05$) no existió diferencia con respecto al grupo control. El único grupo que presentó una ganancia de masa corporal estadísticamente menor que el grupo control fue el grupo que ingirió sacarosa al 10%. Lo anterior concuerda con lo reportado por la investigación de Martínez et al. (2010), quienes concluyeron que tras 73 días de administrar aspartame, fructosa, sacarosa y sucralosa a ratas Wistar macho, el grupo de sacarosa presentó la menor ganancia de masa corporal. De acuerdo con la prueba de rangos múltiples el grupo de sacarosa (295.6 g – 335.9 g) difirió de manera significativa del grupo de sacarina (344.1 g – 384.4 g). Lo anterior concuerda con lo reportado por Feijó et al. (2013) y por Foletto et al. (2016), cuyas investigaciones indicaron que la sacarina provocó una mayor ganancia de masa corporal con respecto a la sacarosa. No obstante, en las investigaciones de Feijó et al. (2013) y Foletto et al. (2016) no existió diferencia en la ingesta calórica, caso contrario a lo observado en la presente investigación en donde se encontró la existencia de diferencias significativas en la cantidad de energía ingerida (Figura 4) entre sacarosa (32,793 kJ/rata – 36,591 kJ/rata) y sacarina (26852 kJ/rata – 36591 kJ/mL). En esta investigación el grupo de sacarosa a pesar de ingerir una mayor cantidad de energía presentó ganancias de masa corporal menores, como ocurrió en la experimentación de Martínez et al. (2010). Empero, en las investigaciones de Feijó et al. (2013) y Foletto et al. (2016) la sacarina fue adicionada al yogur que era suministrado junto con la dieta, además las ratas Wistar empleadas fueron ratas adultas. En la presente investigación la sacarina y el resto de los edulcorantes fueron adicionados en el agua potable y las ratas empleadas correspondieron a especímenes jóvenes en crecimiento (desde el destete hasta 104 días después).

Estos hallazgos indican la pertinencia de futuras investigaciones sobre el efecto de la matriz alimentaria en la cual se estén proporcionando los edulcorantes y la edad de los especímenes, planteando la hipótesis de que el consumo de edulcorantes altera la relación directa entre consumo de energía y la ganancia de masa corporal y, considerando los estudios recientes sobre la microbiota intestinal, si esta tiene un efecto sobre estas dos variables.

Respecto de la alteración entre ingesta energética y la ganancia de masa corporal, diversas investigaciones han sugerido que el consumo crónico de edulcorantes no nutritivos conlleva a alteraciones en la predicción natural de asociar el sabor dulce con aporte de energía. Lo anterior conllevaría a una regulación deficiente en la ingesta energética, un balance energético positivo y finalmente al incremento de masa corporal (Swithers et al., 2009; Swithers, Martin, & Davidson, 2010; Swithers et al., 2013; Swithers & Davidson, 2008). No obstante, Davidson et al. (2011) acotaron este efecto adverso: las interferencias predictivas entre calorías y sabor dulce ocasionadas

por los edulcorantes hipocalóricos parecen ser solamente relevantes cuando se consume una dieta dulce después de ingerir edulcorantes.

Ingesta de alimento

Los datos de consumo de alimento indican una tendencia muy notoria (Fig. 2A) ya que aquellos grupos que ingirieron edulcorantes calóricos (sacarosa y fructosa) consumieron la menor cantidad de alimento, como es esperable debido a la ingesta calórica, en relación con los grupos que consumieron edulcorantes hipocalóricos (acesulfame K, aspartame, mezcla de aspartame con acesulfame, sacarina y sucralosa). Sin embargo, el único grupo que difirió en la cantidad de alimento ingerido acumulado con respecto al del grupo control (2,104 g/rata – 2,548 g/rata) fue el grupo de sacarosa (1,324 g/rata – 1,675 g/rata). De acuerdo con Picó et al., (2006) el índice de saciedad de un alimento está directamente relacionado con el contenido de sacarosa de un alimento. Así los alimentos ricos en sacarosa provocan rápidamente la sensación de saciedad. Lo anterior se vio reflejado en la presente investigación ya que el grupo de sacarosa fue el grupo que ingirió la menor cantidad de alimento, probablemente debido a la mayor sensación de saciedad que la elevada concentración de sacarosa provocó. Adicionalmente, se ha sugerido que los edulcorantes no nutritivos estimulan el apetito mediante la estimulación del neuropéptido Y (Wang et al., 2016). Sin embargo, en la presente investigación ningún grupo de edulcorantes artificiales consumió más alimento que el grupo control excepto el grupo que consumió la mezcla de edulcorantes de alta intensidad (aspartame con acesulfame), aunque no hubo diferencia significativa entre estos especímenes y los del grupo control (Fig. 2B). Por tanto, los efectos de una mayor ingesta de alimentos provocada por la ingesta de edulcorantes aún no son del todo claros. Probablemente como indicaron Davidson et al. (2011) el efecto dependa mucho de la matriz alimentaria en la cual se encuentren los edulcorantes, del efecto de los edulcorantes sobre la microbiota (Daly et al., 2016; Palmnäs et al., 2014; Suez et al., 2014; Suez et al., 2015)

Ingesta de bebida

Contrario a lo observado en la cantidad de alimento consumido, la cantidad de bebida ingerida (Fig 3A y 3B) fue mucho mayor en los grupos de edulcorantes calóricos (sacarosa y fructosa) ya que, de manera natural instintiva, los mamíferos prefieren estos sabores que los de los edulcorantes artificiales o incluso el agua por cuestiones de supervivencia. El grupo que ingirió la mayor cantidad de bebida fue el grupo de sacarosa (8,788 mL/rata – 9,802 mL/rata) seguido del de fructosa (6,964 mL/rata – 7,977 mL/rata) En relación con los edulcorantes hipocalóricos, únicamente el grupo que ingirió la mezcla de aspartame con acesulfame (5,475 mL/rata – 6,608 mL/rata) presentó una mayor ingesta con respecto del grupo control. Lo anterior concuerda con lo reportado previamente por Martínez et al., (2010). Existió una relación inversa entre la cantidad de alimento y bebida consumida, nuevamente como reflejo instintivo, ya que los especímenes de aquellos grupos que ingirieron una mayor cantidad de bebida consumieron una menor cantidad de alimento.

Energía ingerida

Respecto a la energía ingerida se aprecia notablemente el ajuste energético que fue realizado por las ratas (Fig. 4), ya que estas ajustaron instintivamente las calorías provenientes del alimento en función de las calorías provenientes de las bebidas. Lo anterior concuerda con la hipótesis de que los animales se ajustan a las calorías consumidas reduciendo su ingesta calórica a los subsecuentes consumos de alimento (Mazlan et al., 2006; Rowland et al., 2005). De acuerdo con Swithers & Davidson (2008) y Swithers (2015a) los animales pueden utilizar el sabor dulce de los alimentos para predecir el contenido calórico de los alimentos. El consumo del sabor dulce en ausencia de calorías produce efectos significativos comparados con el consumo del sabor dulce asociado con calorías y, a través del tiempo, estos efectos pueden contribuir a un balance de energía positivo y a un incremento de masa corporal (Swithers, 2015b). Sin embargo, el análisis estadístico indicó la existencia de diferencias significativas. El grupo que presentó la mayor ingesta de energía fue el grupo de fructosa (35,518 kJ/rata – 37,313 kJ/rata), el segundo grupo fue el de sacarosa (32,793 kJ/rata – 36,591 kJ/rata). Ningún edulcorante ni nutritivo ni no nutritivo difirió del grupo control. Los resultados difieren a lo reportado por Feijó et al. (2013) y Foletto et al. (2016), quienes reportaron que no existieron diferencias en la energía consumida por el grupo de sacarina y el grupo de sacarosa. Sin embargo, debe recordarse que la matriz alimentaria en donde fueron suministrados los edulcorantes fue distinta a la de la presente investigación ya que fueron adicionados al agua

potable, mientras que en las investigaciones de Feijó et al. (2013), Foletto et al. (2016) y Swithers & Davidson (2008) fueron adicionados al yogurt que acompañaba el alimento de las ratas. Lo anterior, evidencia la necesidad de estudiar el posible efecto de la matriz alimentaria y los edulcorantes.

Niveles séricos de glucosa

Respecto de los niveles séricos de glucosa en ayuno (Fig. 5A) todos los grupos presentaron niveles muy similares. El análisis de varianza ANOVA indicó que no existió diferencia significativa ($p = 0.29$). Lo anterior concuerda con lo reportado por Foletto et al. (2016), quienes indicaron que los niveles séricos de glucosa fueron iguales en los grupos que consumieron sacarosa y sacarina. El consumo de edulcorantes calóricos e hipocalóricos a lo largo de 104 días no influyó en los niveles séricos de glucosa. Lo anterior contrasta con los resultados obtenidos por Suez et al. (2014) quienes encontraron que la sacarina inducía intolerancia a la glucosa debido a alteraciones de la microbiota intestinal. Por lo tanto, el efecto de los edulcorantes sobre los niveles séricos de glucosa aún no está completamente elucidado, por lo que se debe seguir indagando sobre este tema, especialmente considerando la edad de los especímenes de prueba, ya que el comportamiento de animales de prueba jóvenes o de la llamada tercera edad debe ser diferente ya que en los seres humanos lo es.

Niveles de triglicéridos

Respecto a los niveles séricos de triglicéridos en ratas macho (Fig. 5B) se observaron niveles muy similares en todos los grupos de edulcorantes. El análisis de varianza ANOVA indicó que no existieron diferencias significativas ($p = 0.008$). Sin embargo, existen reportes en donde se indica que la fructosa sobre-estimula la lipogénesis hepática (Basciano et al., 2005; Rutledge & Adeli, 2007; Tappy et al., 2010; Varman, 2011). De acuerdo con Tappy et al. (2010), “el consumo excesivo de fructosa conlleva al desarrollo de esteatosis hepática, favorece la acumulación visceral de grasa y desarrolla la hipertrigliceridemia”. En la presente investigación no se observó dicho efecto, probablemente debido al corto tiempo durante el cual se suministraron los edulcorantes (solamente 104 días) y la edad de los especímenes.

Colesterol

Investigaciones en humanos han indicado que el consumo de fructosa incrementan los niveles de colesterol total y de colesterol LDL, tanto en hombres como en mujeres (Jameel et al., 2014; Stanhope et al., 2011; Zhang et al., 2013), especialmente en la edad adulta y en la tercera edad. Empero, en la presente investigación el análisis de varianza ANOVA indicó que no existieron diferencias significativas en los niveles séricos de colesterol $p = 0.5529$. Probablemente debido al corto periodo de administración de los edulcorantes y a que se trataba de ratas muy jóvenes. Es por ello por lo que se deberá continuar indagando acerca de los efectos adversos del consumo crónico de edulcorantes en distintas etapas de la vida del modelo animal.

CONCLUSIÓN

Los datos indicaron en cuanto a la ganancia de masa corporal que existió una variabilidad en el aumento de masa corporal y el tipo de edulcorante ingerido. Sin embargo, este aumento no es explicado por la cantidad de energía ingerida. El grupo que presentó el menor incremento de masa corporal fue el grupo de sacarosa, sin embargo, este grupo fue el que tuvo una ingesta energética mayor que el control. El consumo de edulcorantes desde el destete hasta 104 días posteriores, que equivaldrían en forma aproximada a un 12% de su esperanza de vida (Sengupta, 2014), por lo que los edulcorantes calóricos e hipocalóricos no provocaron cambios en los niveles séricos de colesterol, glucosa o triglicéridos. En ninguno caso se superaron los rangos considerados como normales. Probablemente debido al lapso corto de la vida del animal que estuvo bajo estudio. Respecto de los patrones de ingesta de alimento y bebida, se encontró que los grupos de edulcorantes calóricos consumieron la menor cantidad de alimento debido a la mayor ingesta de bebida, como era esperado (Martínez et al., 2010). Finalmente, aún queda mucho por elucidar acerca del efecto del consumo crónico de edulcorantes sobre la ganancia de masa corporal, el perfil bioquímico, el perfil hormonal, la saciedad y la lipogénesis a lo largo de la vida, así como el papel que desempeñan las matrices alimentarias en donde se proporcionan estos edulcorantes

AGRADECIMIENTOS

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

Se agradece el financiamiento parcial para la adquisición de materiales y reactivos al proyecto PAPIME Clave PE101709: “Apoyo a la enseñanza experimental de las asignaturas terminales de las carreras que se imparten en la Facultad de Química de la UNAM”

Se agradece al Sistema Nacional de Investigadores por las 2 becas de Ayudantes de Investigador Nacional III de un salario mínimo durante un año.

Asimismo, se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca brindada (No. de Becario: 576643, CVU: 660755).

BIBLIOGRAFÍA

- Anton, S. D., Martin, C. K., Han, H., Coulon, S., Cefalu, W. T., Geiselman, P., & Williamson, D. A. (2010). Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite*, 55(1), 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2010.03.009>
- Basciano, H., Federico, L., & Adeli, K. (2005). Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutrition & Metabolism*, 2(1), 5. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-2-5>
- Bhupathiraju, S. N., Pan, A., Malik, V. S., Manson, J. E., Willett, W. C., Dam, R. M. Van, & Hu, F. B. (2013). Caffeinated and caffeine-free beverages and risk of type 2 diabetes 1 – 3. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 97(2), 155–66. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.048603>
- Boakes, R. A., Martire, S. I., Rooney, K. B., & Kendig, M. D. (2016). Individual differences in saccharin acceptance predict rats' food intake. *Physiology and Behavior*, 164, 151–156. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.05.050>
- Cohen, L., Curhan, G., & Forman, J. (2012). Association of sweetened beverage intake with incident hypertension. *Journal of General Internal Medicine*, 27(9), 1127–1134. <https://doi.org/10.1007/s11606-012-2069-6>
- Daly, K., Darby, A. C., & Shirazi-Beechey, S. P. (2016). Low calorie sweeteners and gut microbiota. *Physiology and Behavior*, 164, 494–500. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.03.014>
- Davidson, T. L., Martin, A. a, Clark, K., & Swithers, S. E. (2011). Intake of High-Intensity Sweeteners Alters the Ability of Sweet Taste to Signal Caloric Consequences: Implications for the Learned Control of Energy and Body Weight Regulation. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 64(7), 1430–1441. <https://doi.org/10.1080/17470218.2011.552729>
- DOF. Norma Oficial Mexicana, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, NOM-062-ZOO-1999 § (1999). Mexico. Retrieved from http://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf
- Drewnowski, A. (2007). The real contribution of added sugars and fats to obesity. *Epidemiologic Reviews*, 29(1), 160–171. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxm011>
- Fagherazzi, G., Vilier, A., Sartorelli, D. S., Lajous, M., & Balkau, B. (2013). Consumption of artificially and sugar-sweetened beverages and incident type 2 diabetes in the Etude Epidé miologique auprès des femmes de la Mutuelle Générale de l'Education Nationale–European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. *American Journal of Clinical Nutrition*, (1), 1–7. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.050997>
- Feijó, F. de M., Ballard, C. R., Foletto, K. C., Batista, B. A. M., Neves, A. M., Ribeiro, M. F. M., & Bertoluci, M. C. (2013). Saccharin and aspartame, compared with sucrose, induce greater weight gain in adult Wistar rats, at similar total caloric intake levels. *Appetite*, 60(1), 203–207. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.10.009>

- Foletto, K. C., Melo Batista, B. A., Neves, A. M., de Matos Feijó, F., Ballard, C. R., Marques Ribeiro, M. F., & Bertoluci, M. C. (2016). Sweet taste of saccharin induces weight gain without increasing caloric intake, not related to insulin-resistance in Wistar rats. *Appetite*, *96*, 604–610. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.11.003>
- Fowler, S. P. G. (2016). Low-calorie sweetener use and energy balance: Results from experimental studies in animals, and large-scale prospective studies in humans. *Physiology and Behavior*, *164*, 517–523. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.04.047>
- Fowler, S. P. G., Williams, K., & Hazuda, H. P. (2015). Diet soda intake is associated with long-term increases in waist circumference in a biethnic cohort of older adults: The san antonio longitudinal study of aging. *Journal of the American Geriatrics Society*, *63*(4), 708–715. <https://doi.org/10.1111/jgs.13376>
- Fowler, S. P. G., Williams, K., Resendez, R. G., Hunt, K. J., Hazuda, H. P., & Stern, M. P. (2008). Fueling the Obesity Epidemic? Artificially Sweetened Beverage Use and Long-term Weight Gain. *Obesity*, *16*(8), 1894–1900. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.284>
- Gardener, H., Rundek, T., Markert, M., Wright, C. B., Elkind, M. S. V., & Sacco, R. L. (2012). Diet soft drink consumption is associated with an increased risk of vascular events in the Northern Manhattan study. *Journal of General Internal Medicine*, *27*(9), 1120–1126. <https://doi.org/10.1007/s11606-011-1968-2>
- Jameel, F., Phang, M., Wood, L. G., & Garg, M. L. (2014). Acute effects of feeding fructose, glucose and sucrose on blood lipid levels and systemic inflammation. *Lipids in Health and Disease*, *13*(1), 195. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-195>
- Markey, O., Le Jeune, J., & Lovegrove, J. A. (2016). Energy compensation following consumption of sugar-reduced products: a randomized controlled trial. *European Journal of Nutrition*, *55*(6), 2137–2149. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-1028-5>
- Martínez, C., González, E., García, R. S., Salas, G., Constantino-casas, F., Macías, L., ... Durán-de-bazúa, C. (2010). Effects on Body Mass of Laboratory Rats after Ingestion of Drinking Water with Sucrose , Fructose , Aspartame , and Sucralose Additives. *The Open Obesity Journal*, *2*, 116–124. <https://doi.org/10.2174/1876823701002010116>
- Mazlan, N., Horgan, G., & Stubbs, R. J. (2006). Energy density and weight of food effect short-term caloric compensation in men. *Physiology and Behavior*, *87*(4), 679–686. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.01.032>
- National Research Council. (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (Eighth Edi). Washington (DC): The National Academies Press. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/>
- Nettleton, J., Lutsey, P., Wang, Y., Lima, J., Michos, E., & Jacobs, D. (2009). Diet Soda Intake and Risk of Incident Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Diabetes Care*, *32*(4), 688–694. <https://doi.org/10.2337/dc08-1799>
- Palrnäs, M. S. A., Cowan, T. E., Bomhof, M. R., Su, J., Reimer, R. A., Vogel, H. J., ... Shearer, J. (2014). Low-Dose Aspartame Consumption Differentially Affects Gut Microbiota-Host Metabolic Interactions in the Diet-Induced Obese Rat. *PLoS ONE*, *9*(10), e109841. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109841>
- Picó, C., Oliver, P., Priego, T., Sánchez, J., & Palou, A. (2006). Alimentos funcionales y obesidad: estrategias, eficacia y seguridad. *Rev Esp Obes*, *4*(3), 156–174.
- Rogers, P. J., Hogenkamp, P. S., de Graaf, K., Higgs, S., Lluch, A., Ness, a R., ... Mela, D. J. (2015). Does low-energy sweetener consumption affect energy intake and body weight? A systematic review, including meta-analyses, of the evidence from human and animal studies. *International Journal of Obesity*, *40*(August), 1–58. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.177>

- Rowland, N. E., Nasrallah, N., & Robertson, K. L. (2005). Accurate caloric compensation in rats for electively consumed ethanol-beer or ethanol-polycose mixtures. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *80*(1), 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.10.010>
- Rutledge, A. C., & Adeli, K. (2007). Fructose and the Metabolic Syndrome : Pathophysiology and Molecular Mechanisms. *Nutrition Reviews*, *65*(6), S13–S23. <https://doi.org/10.1301/nr.2007.jun.S13-S23>
- Sakurai, M., Nakamura, K., Miura, K., Takamura, T., Yoshita, K., Nagasawa, S. Y., ... Nakagawa, H. (2014). Sugar-sweetened beverage and diet soda consumption and the 7-year risk for type 2 diabetes mellitus in middle-aged Japanese men. *European Journal of Nutrition*, *53*(1), 251–258. <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0523-9>
- Stanhope, K. L., Bremer, A. A., Medici, V., Nakajima, K., Ito, Y., Nakano, T., ... Havel, P. J. (2011). Consumption of fructose and high fructose corn syrup increase postprandial triglycerides, LDL-cholesterol, and apolipoprotein-B in young men and women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *96*(10), 1596–1605. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-1251>
- Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C. A., Maza, O., ... Elinav, E. (2014). Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*, *514*(7521), 181–186. <https://doi.org/10.1038/nature13793>
- Suez, J., Korem, T., Zilberman-Schapira, G., Segal, E., & Elinav, E. (2015). Non-caloric artificial sweeteners and the microbiome: Findings and challenges. *Gut Microbes*, *6*(2). <https://doi.org/10.1080/19490976.2015.1017700>
- Swithers, S. E. (2013). Artificial sweeteners produce the counterintuitive effect of inducing metabolic derangements. *Trends Endocrinol Metab.*, *24*(9), 431–41. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.05.005>
- Swithers, S. E. (2015a). Artificial sweeteners are not the answer to childhood obesity. *Appetite*, *93*, 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.03.027>
- Swithers, S. E. (2015b). Not so Sweet Revenge: Unanticipated Consequences of High-Intensity Sweeteners. *Behavior Analyst*, *38*(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s40614-015-0028-3>
- Swithers, S. E., Baker, C. R., & Davidson, T. L. (2009). General and persistent effects of high-intensity sweeteners on body weight gain and caloric compensation in rats. *Behavioral Neuroscience*, *123*(4), 772–780. <https://doi.org/10.1037/a0016139>
- Swithers, S. E., & Davidson, T. L. (2008). A role for sweet taste: calorie predictive relations in energy regulation by rats. *Behavioral Neuroscience*, *122*(1), 161–173. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.122.1.161>
- Swithers, S. E., Martin, A. A., & Davidson, T. L. (2010). High-Intensity Sweeteners and Energy Balance. *Physiol Behav.*, *100*(1), 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.12.021>
- Swithers, S. E., Sample, C. H., & Davidson, T. L. (2013). Adverse effects of high-intensity sweeteners on energy intake and weight control in male and obesity-prone female rats. *Behavioural Neuroscience*, *127*(2), 262–274. <https://doi.org/10.1037/a0031717>
- Sylvetsky, A. C., Brown, R. J., Blau, J. E., Walter, M., & Rother, K. I. (2016). Hormonal responses to non-nutritive sweeteners in water and diet soda. *Nutrition & Metabolism*, *13*(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s12986-016-0129-3>
- Tappy, L., Le, K. A., Tran, C., & Paquot, N. (2010). Fructose and metabolic diseases: New findings, new questions. *Nutrition*, *26*(11–12), 1044–1049. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2010.02.014>
- Varman, S. T. (2011). Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *22*(2), 60–65. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2010.10.003>
- Wang, Q. P., Lin, Y. Q., Zhang, L., Wilson, Y. A., Oyston, L. J., Cotterell, J., ... Neely, G. G. (2016). Sucralose

Promotes Food Intake through NPY and a Neuronal Fasting Response. *Cell Metabolism*, 24(1), 75–90.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.06.010>

Yang, Q. (2010). Gain weight by “going diet?” Artificial sweeteners and the neurobiology of sugar cravings. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 83(2), 101–108.

Zhang, Y. H., An, T., Zhang, R. C., Zhou, Q., Huang, Y., & Zhang, J. (2013). Very High Fructose Intake Increases Serum LDL-Cholesterol and Total Cholesterol: A Meta-Analysis of Controlled Feeding Trials. *Journal of Nutrition*, 143(9), 1391–1398. <https://doi.org/10.3945/jn.113.175323>