



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**

---

**INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**

“Evaluación del peso corporal, ingesta calórica e indicadores bioquímicos durante una prueba de alimento en ratas Wistar expuestas a endulzantes no calóricos durante la gestación y la lactancia”

TESIS

**Para obtener el título de  
Licenciada en Nutrición**

**P R E S E N T A**

**P.L.N. Laura Rojas Rosas  
No. cuenta: 286979**

**Bajo la Dirección de:  
Dra. Diana Patricia Olivo Ramírez  
Profesora Investigadora de Tiempo Completo  
Codirectora: Dra. Guadalupe López Rodríguez  
Profesora Investigadora de Tiempo Completo.  
Área Académica de Nutrición.**



Pachuca, Hgo., octubre, 2019



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**



De acuerdo con el artículo 40 del Reglamento de Titulación vigente, el Jurado de examen recepcional designado, autoriza para su impresión la Tesis titulada

**"Evaluación del peso corporal, Ingesta calórica e Indicadores bioquímicos durante una prueba de alimento en ratas Wistar expuestas a endulzantes no calóricos durante la gestación y la lactancia"**

Que para obtener el Título de Licenciada de Nutrición sustenta la Pasante

**C. Laura Rojas Rosas  
A T E N T A M E N T E  
Pachuca, Hidalgo, 18 de octubre de 2019  
"Amor, Orden y Progreso"**

PRESIDENTE:	DRA. GUADALUPE LÓPEZ RODRÍGUEZ
SECRETARIO:	DR. MARCO AURELIO GONZÁLEZ UNZAGA
PRIMER VOCAL:	MTRA. ARIANNA OMAÑA COVARRUBIAS
SEGUNDO VOCAL:	DR. MARCOS MARCELO GALVÁN GARCÍA
TERCER VOCAL:	DRA. DIANA PATRICIA OLIVO RAMÍREZ
PRIMER SUPLENTE:	MTRA. TRINIDAD LORENA FERNÁNDEZ CORTÉS
SEGUNDO SUPLENTE:	DR. LUIS DELGADO OLIVARES

Para la realización del proyecto de investigación de esta tesis se recibió financiamiento de:

SEP-PRODEP: Convocatoria de Apoyo a la Incorporación de NPTC (DPOR), convenio 511-6/17-8021.

SEP-PRODEP: Beca a estudiante (LRR), convenio 511-6/17-8021, acta 1249.

*“Soy de las que piensa que la ciencia tiene una gran belleza. Un científico en su laboratorio no sólo es un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas”*

*Marie Curie*

## *Dedicatorias*

*A mi mamá: María Elia, si pudiera cambiaria todo para que estuvieras aquí y no me refiero a justo este día, sino a todos. Como todos y cada uno de mis pequeños y grandes logros, esto es más tuyo que mío, gracias por creer en mí, recuerdo todas tus enseñanzas con amor, pero sobre todo gracias por comenzar a tejer mis alas.*

*A mi papá: Laureano, sé que el proceso fue muy largo y difícil para ambos, pero debes saber que sin tu apoyo, amor y paciencia no hubiera sido posible, hoy puedo decirte que lo logramos. Gracias por terminar de tejer las alas que mamá comenzó.*

*A mi hermana: Daniela, eres un regalo del cielo.*

*A mis hermanos: Iván y Luis, cada cosa buena que hagamos, lleva lo maravilloso de papá.*

*A mis sobrinos: Zaid y Elías, siempre serán mis humanos pequeñitos favoritos.*

## *Agradecimientos*

*A mi directora de tesis, Diana Patricia Olivo Ramírez por el apoyo incondicional dentro y fuera de este proyecto, pero sobre todo por guiar este trabajo con sabiduría, amor y mucha paciencia. Espero la vida nos permita volver a trabajar juntas.*

*A mi codirectora Guadalupe López Rodríguez por el tiempo invertido durante la parte práctica y la parte teórica, pero sobre todo gracias por el apoyo para concluir satisfactoriamente este proyecto.*

*A mis revisores: Arianna Omaña, Lorena Fernández, Marcos Galván, Marco Unzaga y Luis Delgado por tomarse el tiempo de leer y corregir este trabajo.*

*A los biólogos: Efrén, Mikel, Kanec, Manuel y Xóchilt muchas gracias por el apoyo durante la parte experimental con nuestras ratitas, siempre reconoceré la hermosa labor que realizan.*

*A mis compañeros de laboratorio: Cony, Kari, Uli, Carlos, Silvia, Diego y Lili, llevo en mi corazón los momentos compartidos.*

*A mis amigas:*

*Berenice, por la gran y hermosa amistad que hemos construido aún en la distancia, por tomar el tiempo de revisar este trabajo y ayudarme incondicionalmente, tu cariño es de las mejores cosas que me dio la universidad.*

*Lupita, por ser esa amiga que siempre está presente para apoyarme, porque tu fortaleza me ilumina para seguir luchando, se que ambas lograremos mucho, pero quiero que estés y estar en cada triunfo o cada batalla que nos ponga la vida.*

*A mis primas: Liliana y Vanessa: por el apoyo desde siempre, por su cariño, por el lazo de amistad que es mucho más fuerte con los años.*

*A Emmanuel: gracias por el interés, por motivarme y creer en mí, pero sobre todo gracias por estar aquí, ahora y querer permanecer.*

*A mi compañera de proyecto: Car muchas gracias por compartir conmigo, sin tu alegría y tu apoyo constante no hubiera sido tan lindo el trabajo, agradezco a la vida coincidir y construir una amistad que curtió cada recuerdo, es hermoso colaborar con una colega tan capaz y comprometida con la ciencia como tú. Te quiero, recuerda que todo cambia, menos un buen compañero de laboratorio.*

## Índice

1. Resumen .....	1
2. Abstract.....	2
3. Marco Teórico.....	3
3.1 Obesidad.....	3
3.1.1 Definición y factores determinantes .....	3
3.1.2 Contribución de los hidratos de carbono a la obesidad .....	4
3.1.3 Epidemiología de la obesidad y su relación con enfermedades crónico no transmisibles.....	4
3.2 Obesidad, consumo de bebidas azucaradas y alternativas de la industria de alimentos.....	6
3.3 Endulzantes no calóricos: definición e impacto fisiológico .....	8
3.3.1 Acesulfame K.....	8
3.3.2 Sucralosa.....	9
3.3.3 Stevia.....	11
3.4 Efecto sobre la saciedad asociados al consumo de endulzantes no calóricos .....	12
3.5 Programación fetal, alimentación materna y establecimiento de preferencias alimentarias.....	13
4. Problema de investigación.....	16
5. Justificación .....	17
6. Objetivos.....	18
6.1 Objetivo general .....	18
6.2 Objetivos específicos .....	18
7. Hipótesis .....	18
8. Diseño metodológico .....	19
8.1 Tipo de estudio.....	19
8.2 Secuencia general de la metodología experimental.....	19
8.3 Ubicación espacio temporal .....	20
8.4 Aspectos éticos .....	20
8.5 Animales de experimentación .....	20
8.6 Condiciones de alojamiento .....	20
8.7 Etapas experimentales.....	21

8.7.1 Exposición de madres a bebidas endulzadas no calóricas previas a la gestación .....	21
8.7.2 Exposición durante la gestación y lactancia a endulzantes no calóricos	21
8.7.3 Sacrificio de animales una semana después del destete .....	22
8.8 Prueba de alimento .....	22
8.9 Sacrificio de animales, determinación de indicadores metabólicos y disección de tejido adiposo .....	23
8.10 Análisis de resultados.....	24
9. Resultados.....	25
9.1 Peso corporal e indicadores bioquímicos de las crías de rata Wistar siete días después del destete .....	25
9.2 Ingesta de energía de las crías de rata Wistar durante la prueba de alimento .....	26
9.3 Peso corporal semanal de las crías de rata Wistar durante la prueba de alimento.....	29
9.4 Tejido adiposo e indicadores bioquímicos en macho y hembras al final de la prueba de alimento.....	32
10. Discusión .....	34
10.1 Efecto de la exposición vía materna a endulzantes no calóricos sobre peso corporal e indicadores bioquímicos siete días después del destete.....	34
10.2 Efecto de la exposición a endulzantes no calóricos en la descendencia de rata Wistar sobre la ingesta calórica y ganancia de peso corporal durante la prueba de alimento.....	35
10.3 Efecto de la prueba de alimento sobre la acumulación del tejido adiposo y los indicadores bioquímicos (glucosa, triacilglicéridos y colesterol) .....	38
11. Conclusión.....	39
12. Bibliografía.....	41
13. Anexos .....	48
Anexo 1. Formula del alimento estándar para roedor (AE; a partir de la dieta AIN-93M y AIN-93G) y de la dieta alta en grasa (AAG). .....	48
Anexo 2. Peso corporal de las crías siete días después del destete .....	48
Anexo 3. Peso aproximado de acuerdo con la edad de una rata Wistar Han® .	49
Anexo 4. Imagen de una rata Wistar Han®.....	49
Anexo 5. Indicadores metabólicos siete días después del destete .....	50

## Índice de tablas

Tabla 1. Descripción de las soluciones suministradas a los grupos experimentales previo a la gestación y durante la gestación y lactancia.	22
Tabla 2. Peso corporal de las ratas Wistar expuestas vía materna a endulzantes no calóricos, siete días después del destete.	27
Tabla 3. Indicadores bioquímicos de las ratas Wistar expuestas vía materna a endulzantes no calóricos, siete días después del destete.	28
Tabla 4. Consumo calórico diario promedio de alimento estándar y alimento alto en grasa durante la prueba de alimento de machos y hembras expuestos vía materna a endulzantes no calóricos.	29
Tabla 5. Consumo calórico semanal promedio de alimento estándar y alimento alto en grasa durante la prueba de alimento de machos y hembras expuestos vía materna a endulzantes no calóricos.	32
Tabla 6. Peso corporal semanal durante la prueba alimento de machos y hembras expuestos vía materna a endulzantes no calóricos.	33
Tabla 7. Peso relativo de tejido adiposo de machos y hembras expuestos vía materna a endulzantes no calóricos, al final de la prueba de alimento.	34
Tabla 8. Indicadores bioquímicos de machos y hembras expuestos vía materna a endulzantes no calóricos, al final de la prueba de alimento.	35

## Índice de figuras

Figura 1. Estructura química de acesulfame K	9
Figura 2. Estructura química de sucralosa	10
Figura 3. Estructura química de un glucósido de esteviol	12
Figura 4. Diagrama de la secuencia general de la metodología experimental	20
Figura 5. Esquema del tratamiento y asignación de los grupos experimentales para la prueba de alimento.	24

## Abreviaturas

<b>AAG</b>	Alimento alto en grasa
<b>Acek</b>	Grupo acesulfame K
<b>AE</b>	Alimento estándar
<b>ANOVA</b>	Análisis de varianza
<b>CoI-T</b>	Colesterol total
<b>Ctl</b>	Control
<b>EC</b>	Endulzante calórico
<b>ENT</b>	Enfermedades no transmisibles
<b>EE</b>	Error estándar de la media
<b>ENC</b>	Endulzante no calórico
<b>ENSANUT MC 2016</b>	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino del 2016
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>PA</b>	Prueba de alimento
<b>P-gp</b>	Glicoproteína P
<b>SDDD</b>	Siete días después del destete
<b>Stev</b>	Grupo Stevia
<b>Sucr</b>	Grupo sucralosa
<b>SyO</b>	Sobrepeso y obesidad
<b>TAG</b>	Triacilglicéridos

## 1. Resumen

El reemplazo de azúcares por endulzantes no calóricos (ENC) permite a la industria alimentaria ofrecer el mismo sabor dulce a alimentos y bebidas, disminuyendo el aporte calórico, sin embargo, aún no es clara la evidencia para atribuir consecuencias positivas o negativas de su uso sobre la salud humana ni tampoco para recomendarlo o contraindicarlo en el embarazo y la lactancia. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el peso corporal, la ingesta calórica y los indicadores bioquímicos durante una prueba de alimento en ratas Wistar en gestación y lactancias expuestas a ENC. Ratas madre estuvieron expuestas, durante la gestación y lactancia, al consumo de una bebida con ENC (Acesulfame K: AceK; Sucralosa: Sucr; Stevia: Stev o agua: Ctl). Siete días después del destete (SDDD) las crías fueron pesadas y se realizaron determinaciones de indicadores bioquímicos. Posteriormente, su consumo calórico de alimento estándar (AE) y alto en grasa (AAG) fue evaluado durante seis semanas mediante una prueba de alimento (PA); el peso corporal fue medido semanalmente. Se realizó un análisis de varianza de una vía y la prueba *post hoc* de Tukey para el análisis de los datos. Las crías de los grupos expuestos a AceK y Stev mostraron un mayor peso corporal SDDD (AceK:  $71.66 \pm 2.74$  g, Stev:  $67.33 \pm 3.00$  g; ANOVA,  $p \leq 0.05$ ). Durante la PA, los machos de Stev y AceK presentaron un mayor consumo diario promedio de Kcal provenientes del AAG ( $58.42 \pm 3.80$  y  $67.23 \pm 5.04$  Kcal respectivamente), en comparación con los del grupo Ctl ( $44.08 \pm 4.34$  Kcal; ANOVA  $p \leq 0.05$ ). Las hembras de los grupos Sucr y AceK presentaron un mayor consumo calórico proveniente del AAG, ( $56.91 \pm 2.13$  y  $60.15 \pm 3.92$  Kcal respectivamente; ANOVA  $p \leq 0.05$ ). Al final de la PA, los machos de Stev y AceK tuvieron mayor peso ( $290.66 \pm 5.68$  y  $302.33 \pm 5.56$  g, respectivamente; ANOVA  $p \leq 0.05$ ). Por su parte, las hembras de Stv y AceK fueron las más pesadas ( $185.0 \pm 5.36$  y  $204.66 \pm 6.29$  g, respectivamente, ANOVA  $p \leq 0.05$ ). Estos resultados aportan evidencia sobre la relación de la exposición vía materna a ENC en las preferencias alimentarias y la ganancia de peso corporal de la rata Wistar.

**Palabras clave:** peso corporal, preferencias alimentarias, exposición vía materna a endulzantes no calóricos.

## 2. Abstract

The replacement of sugars with non-caloric sweeteners (NCSs) allows the food industry to offer the same sweet taste to food and beverages, decreasing the caloric intake, however, the evidence to attribute positive or negative consequences of its use in human health are not clear enough to recommend or contraindicate them in pregnancy and lactation. This work aimed to assess body weight and food preferences in offspring of Wistar rats with maternal exposure to beverages with NCSs. Mother rats were exposed, during pregnancy and lactation, to the consumption of a drink containing NCSs (Acesulfame K: AceK; Sucralose: Sucr; Stevia: Stev or water: Ctl). Seven days after weaning (SDAW) the offspring were weighed and biochemical indicators were determined. Subsequently, their caloric intake of standard food (SF) and high-fat food (HFF) was evaluated for six weeks using a food test (FT); Body weight was measured weekly. A one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test for data analysis were performed. The offspring of the groups exposed to Acek and Stev showed a higher body weight SDAW (AceK:  $71.66 \pm 2.74$  g, Stev:  $67.33 \pm 3.00$  g; ANOVA,  $p \leq 0.05$ ). During FT, Stev and AceK males had a higher average daily consumption of Kcal from HFF ( $58.42 \pm 3.80$  and  $67.23 \pm 5.04$  Kcal respectively; ANOVA  $p \leq 0.05$ ). The females of the Sucr and AceK groups had a higher caloric intake from the HFF, ( $56.91 \pm 2.13$  and  $60.15 \pm 3.92$  Kcal respectively; ANOVA  $p \leq 0.05$ ). At the end of the FT, the males of Stev and AceK ( $290.66 \pm 5.68$  and  $302.33 \pm 5.56$  respectively; ANOVA  $p: 0.05$ ). On the other hand, the females of Stv and AceK ( $185.00 \pm 5.36$  and  $204.66 \pm 6.29$  g, respectively, ANOVA  $p \leq 0.05$ ). These results provide evidence of a possible influence of maternal exposure to NCS on the food preferences and body weight gain of the Wistar rat.

**Key words:** body weight, food preferences, maternal exposure to noncaloric sweeteners.

### **3. Marco Teórico**

#### **3.1 Obesidad**

##### **3.1.1 Definición y factores determinantes**

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud [OMS] (2018), la obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. Es una enfermedad crónica, compleja, de etiología multifactorial, donde interactúan factores genéticos, sociales y ambientales, incluyendo estilos de vida, así como determinantes económicos. Se caracteriza por un aumento en los depósitos de grasa corporal, y por ende ganancia de peso, causados por un balance positivo de energía, que ocurre cuando la ingestión de energía de los alimentos excede al gasto energético y, como consecuencia, el exceso se almacena en forma de tejido adiposo en el organismo (Rivera, 2013).

Las causas inmediatas de la obesidad se refieren a una elevada ingestión y un bajo gasto de energía, mediados por la dieta y la actividad física. El balance energético también está modulado por factores fisiológicos, genéticos y epigenéticos. Otros factores causales de la obesidad son los ambientales como la escuela, el trabajo, la comunidad y el hogar, que promueven el sedentarismo, sumados con la inadecuada calidad y acceso a servicios de salud preventiva. En México, a través de varios estudios se han determinado factores causales de la obesidad, como el bajo consumo de frutas y verduras, la poca actividad física, el consumo de bebidas calóricas y el consumo excesivo de alimentos densamente calóricos (Rivera, 2013; Williams, Mesidor, Winters, Dubbert y Wyatt, 2015). Solo 2 a 3% de personas con obesidad tendrían como causa alguna patología endocrinológica, entre las que destacan el hipotiroidismo, síndrome de Cushing, hipogonadismo y lesiones hipotalámicas asociadas a hiperfagia (Moreno, 2012). A su vez estas causas inmediatas son afectadas por la alta disponibilidad y accesibilidad de alimentos con elevada densidad energética y bebidas azucaradas.

### **3.1.2 Contribución de los Hidratos de Carbono a la obesidad**

Los nutrientes que constituyen la principal fuente de energía alimentaria son los hidratos de carbono (HC). Los cuales proceden de los alimentos y se presentan en forma de moléculas complejas (polímeros o polisacáridos), especialmente almidones, dextrinas y fibra, o moléculas más sencillas, monosacáridos, comúnmente denominadas azúcares. Las principales fuentes dietéticas de azúcares son las frutas, algunos vegetales, la leche y los alimentos industrializados con azúcares añadidos: bebidas refrescantes, productos horneados y confitería. El consumo de azúcares de un modo equilibrado en la alimentación diaria tiene propiedades nutricionales importantes, ya que favorece el aporte rápido de glucosa al cerebro y al músculo. El azúcar debería de consumirse de forma natural en los alimentos; sin embargo, el abuso en su consumo, particularmente el asociado a los alimentos industrializados se ha relacionado con la obesidad (Gil-Campos, San José y Díaz, 2015).

Las bebidas que contienen azúcares añadidos, se relacionan con un aumento de sobrepeso y obesidad (SyO) (Rivera, Velasco y Carriedo, 2013). Algunos autores apoyan la hipótesis de que estas bebidas no proporcionan el mismo grado de saciedad que los alimentos sólidos y que, por tanto, los consumidores no ajustan adecuadamente la ingesta total de alimentos para compensar la gran cantidad de energía consumida con las bebidas azucaradas, lo que los llevaría a un consumo en exceso de energía que a su vez los conducirá a ganar más adiposidad y peso corporal (Lisbona, Palma, Parra y Gómez, 2013).

### **3.1.3 Epidemiología de la obesidad y su relación con enfermedades no transmisibles**

Estudios recientes demuestran que la incidencia y prevalencia del SyO han aumentado de manera progresiva durante los últimos sesenta años y de modo considerable en los últimos 20 años, hasta alcanzar cifras de 15 a 20% en niños, 30 a 40% en adolescentes y 60 a 70% en adultos, siendo mayor en mujeres (González-Moreno, Juárez-López y Rodríguez-Sánchez, 2013). A nivel mundial, en el 2016, más de 1,900 millones de personas mayores a 18 años tenían sobrepeso, de los

cuales más de 650 millones eran obesos. En general alrededor del 13% de la población adulta (un 11% en hombres y 15% en mujeres) presentaban obesidad en el año en mención (OMS, 2018). En México en adultos de 20 años o más, la prevalencia combinada de SyO es de 71.2%, donde se observa que la prevalencia es mayor en las mujeres (75.6%) que en los hombres (69.4%). Asimismo, la categoría de obesidad mórbida ( $IMC \geq 40.0 \text{ kg/m}^2$ ) es 2.4 veces más alta en mujeres que en hombres. En otros países más de un tercio de las mujeres presentan obesidad, más de la mitad de las mujeres embarazadas tienen sobrepeso u obesidad, y el 8% de las mujeres en edad reproductiva presentaban obesidad mórbida (González-Moreno et al., 2013).

En la actualidad, la obesidad es conocida como la gran epidemia del siglo XXI, según la OMS en el 2014 había más 600 millones de personas con obesidad en el mundo (Malo-Serrano, Castillo y Pajita, 2017). Lo anterior es preocupante ya que existe evidencia de que el SyO están relacionados con el incremento de riesgos de enfermedades no transmisibles (ENT) tales como diabetes, hipertensión, enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer (Mercado y Vilchis, 2013). Adicionalmente, estas afecciones están relacionadas con alteraciones metabólicas tales como dislipidemias, alteraciones a la tolerancia a los hidratos de carbono y resistencia a la insulina (Brahe et al., 2016; Chi, Gao, Tu, Ru y Lu, 2016). Las prevalencias de la diabetes tipo 2 y de hipertensión se han asociado con un aumento en las tasas de obesidad (Williams et al., 2015). Otro dato alarmante es que, según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en 2016 las principales causas de mortalidad adulta en México fueron las enfermedades isquémicas del corazón y la diabetes mellitus (INEGI, 2018). Estas cifras alarmantes plantean un reto muy importante para el Sistema de Salud en su propósito de disminuir el SyO, que como ya se dijo son causados por un mayor acceso a alimentos con alta densidad energética, entre los que se destaca el consumo de bebidas con altos aportes calóricos (Rodríguez-Burelo, Avalos-García y López-Ramón, 2014). Este último punto nos lleva a centrar la atención en el consumo de bebidas azucaradas, a nivel regional y nacional.

### **3.2 Obesidad, consumo de bebidas azucaradas y alternativas de la industria de alimentos**

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino del 2016 (ENSANUT MC 2016), en nuestro país el 39.1% de la población consumió diariamente bebidas azucaradas, el 33.2% varias veces a la semana, el 18.7% de una a tres veces al mes, y el 9% menos de una vez al mes o nunca. Lo anterior nos indica que más del 50% de los mexicanos tomaron varias veces a la semana bebidas azucaradas, cuyo consumo se relaciona directamente con el sobrepeso y la obesidad. En este estudio también se encontró que a un 81.6% de la población adulta le gusta el sabor de las bebidas azucaradas (ENSANUT, 2016).

Existe una gran variedad de bebidas a las que se agregan excesivas cantidades de azúcar, entre ellas las bebidas carbonatadas y no carbonatadas que contienen edulcorantes, endulzantes y saborizantes. Su consumo se consolidó desde los años sesenta, al convertirse en parte de la dieta habitual, incluso en niños (Gutiérrez et al., 2009). La ingesta de energía proveniente de estas bebidas representaba 21% del consumo total de energía de adolescentes y adultos mexicanos, una verdadera preocupación para la salud pública en México (Rivera et al., 2008), principalmente porque se ha documentado una asociación positiva entre el aumento en el consumo de bebidas endulzadas, con un aumento en la prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población (Malik, Schulze y Hu, 2006).

Los países con mayor consumo de refresco anual por persona son Estados Unidos de Norteamérica (200 L), México (150 L), Canadá (110 L) y Argentina (70 L). Por lo tanto, nuestro país es uno de los principales consumidores de refrescos *per cápita* en el mundo. La población de todas las edades y clases sociales tiene un consumo descontrolado de bebidas con alto valor energético; en lugar de beber agua natural, los mexicanos hemos optado por las bebidas azucaradas, tanto así que su consumo se inicia en el hogar desde edades tempranas (Gutiérrez et al., 2009).

La alimentación de hoy en día ha llevado al hombre al mayor consumo de alimentos que concentran niveles altos de azúcares refinados y grasas. Consecuencia de ello, hay más predisposición a desarrollar obesidad. A su vez, el consumo elevado de

azúcar también produce un aumento excesivo de la glucosa en sangre; lo que pueden desencadenar la aparición de diabetes mellitus tipo 2. Por lo cual, tanto la ciencia como la industria han tratado constantemente de mejorar la calidad de los alimentos, disminuyendo los niveles de azúcar y reemplazándolos por otras sustancias que aporten menos calorías. En este sentido, se reemplaza el azúcar por endulzantes no calóricos (ENC), que contribuyen con el sabor dulce, sin aportar calorías (Nutrición y Educación Alimentaria [Nutr y EA], 2014) esto con el propósito de combatir el aumento de obesidad y diabetes mellitus tipo 2 debido al sobreconsumo de azúcar (Johnson, 2014). Sin embargo, entre los consumidores también existen dudas sobre los riesgos asociados al uso de ENC, como elementos “artificiales o naturales” en el sentido de que si implican riesgos para la salud (García-Almeida, García, Casado y García, 2013).

Debido a la preocupación por el impacto en la salud poblacional relacionado con el consumo de bebidas azucaradas, las bebidas endulzadas con ENC han sido consideradas como alternativas potencialmente más saludables. Es lógico esperar que las bebidas con ENC puedan ayudar a controlar el peso, sin embargo, hay evidencia que sugiere lo contrario (Lutsey, Steffen, Stevens, 2008). Un estudio realizado en ratas demostró que a mayor consumo de alimentos con ENC mayor ingesta calórica, mayor peso corporal y mayor adiposidad. Estos resultados sugieren que el consumo de productos con ENC puede causar el aumento del peso corporal y la obesidad (Swithers y Davidson, 2008).

Por otra parte, el consumo de endulzantes no nutritivos se ha vuelto cada vez más popular; están aprobados para ser utilizados en alimentos y para ser consumidos por el público en general. A pesar del consumo excesivo y creciente de estos, su efecto a largo plazo en la salud humana es poco conocido y las recomendaciones actuales de ingesta no están claras para ciertos grupos de edad como mujeres embarazadas, mujeres en etapa de lactancia y niños lactantes (Azhad et al., 2016). A pesar de la ausencia de toxicidad aguda, la acumulación de datos experimentales en modelos animales ha cuestionado la conveniencia de los endulzantes artificiales, como lo demuestran las alteraciones en el microbioma intestinal, el aumento de la

absorción intestinal de glucosa y la estimulación de los receptores de sabor dulce (Zhu et al., 2017)

En la siguiente sección proporcionaremos una descripción breve sobre los endulzantes no calóricos y en específico de los endulzantes empleados en la presente investigación, así como sus efectos fisiológicos.

### **3.3 Endulzantes no calóricos: definición e impacto fisiológico**

El empleo de ENC como sustitutos parciales o totales del contenido en azúcares de comidas y bebidas, ha tenido su máxima expansión en los últimos 35 años (García-Almeida et al, 2013). El término endulzante se refiere a una sustancia que se utiliza para dar sabor dulce a los alimentos (Gil-Campos et al., 2015). En cuanto a su clasificación, existen diversas formas de categorizarlos; por ejemplo, con base en su naturaleza, en su aporte calórico y por su estructura (Fragoso, 2015). Algunos de los ENC son extractos naturales mientras que otros son sintéticos, en este último caso se denominan endulzantes artificiales.

Los endulzantes no calóricos (ENC), también conocidos como endulzantes no nutritivos, tienen un alto poder endulzante, sin embargo, su contribución con calorías a la dieta es nula o mínima, de ahí su designación (Parra, 2012).

#### **3.3.1 Acesulfame K**

El acesulfame K o acesulfame potásico, como ENC, se utiliza en alimentos, bebidas, productos farmacéuticos y de higiene oral en casi 90 países (Zhang et al., 2011). Descubierta en 1967, es un derivado acetoacético, y es la sal de potasio del 6-metil-1,2,3-oxatiazina-4 (3 H)-1,2, 2- dióxido (figura 1). Es ligeramente soluble en agua y de 160-220 veces más dulce que la sacarosa. No hay evidencias de que se acumule en el organismo ya que se absorbe en el intestino delgado y es excretado por vía renal en menos de 24 horas sin ser metabolizado (por lo que no produce energía oxidativa); en las excretas de ratas, perros, cerdos y humanos, no se encontraron metabolitos de este compuesto. Tampoco se le han demostrado efectos adversos sobre el crecimiento y la fertilidad, ni daños hispatológicos, teratogénicos o de cancerogenicidad; sin embargo, se ha sugerido emplearlo con precaución por efectos genotóxicos observados en ratones (Durán, Cordón y Rodríguez, 2013).

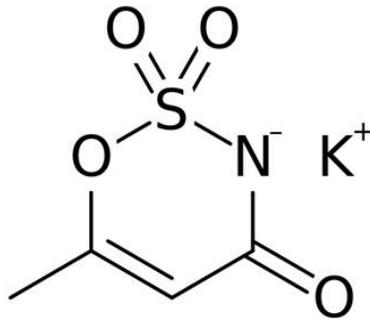


Figura 1. Estructura química del acesulfame K

Entre los ENC, el acesulfame K es de los más utilizados, considerando entre sus consumidores niños y mujeres en edad fértil (Araújo et al., 2014). Sin embargo, existe poca evidencia que abunde sobre la seguridad de su consumo durante el embarazo. Ciertos estudios en animales han encontrado que este endulzante atraviesa la placenta ocasionando en la descendencia una disminución en los umbrales para la percepción del sabor dulce causando en la edad adulta, mayor preferencia por bebidas con mayor concentración de azúcar y bebidas endulzadas con acesulfame K (Durán, Salazar, Espinoza y Fuentealba, 2017; Laviada-Molina, 2017; Cavagnari, 2019).

### **3.3.2 Sucralosa**

La sucralosa es un edulcorante artificial descubierto en 1976, cuyo nombre sistemático es 1,6 dicloro-1,6-dideoxy-β-D-fructofuranosil-4-cloro-4-deoxy-αD-galactopiranosido, el cual es un compuesto obtenido por la halogenación selectiva de la molécula de sacarosa, en el cual se sustituyen tres grupos hidroxilo por iones cloruro (figura 2). Es entre 500 a 700 veces más dulce que la sacarosa, es muy soluble en agua y estable bajo condiciones normales de proceso.

La sucralosa no puede ser metabolizada con fines energéticos, ni tampoco absorbida fácilmente por el tubo digestivo: el 15% de ella se absorbe de manera pasiva y un 85% es eliminado por las heces (Durán et al., 2013; Durán et al., 2017).

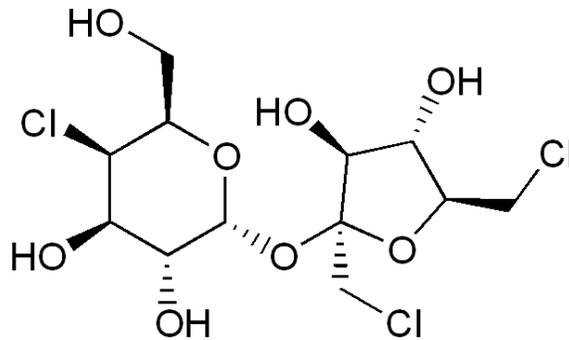


Figura 2. Estructura química de la sucralosa

Un estudio en roedores demostró que la absorción intestinal de sucralosa se reduce por la glicoproteína P (P-gp) la cual actúa como barrera y regresa a la sucralosa de vuelta a la luz intestinal para su excreción en las heces. Sin embargo, una fracción sustancial de este ENC se metaboliza por dos isoenzimas del citocromo P450, específicamente las isoenzimas CYP3A4 y CYP2D6 (Abou-Donia, El-Masry, Abdel-Rahman, McLendon y Schiffman, 2008). Por otra parte, también se ha demostrado que la captación de la sucralosa en áreas sensibles del hipotálamo produce señales inexactas con respecto a los niveles de glucosa en el cerebro extracelular lo cual podría afectar la regularización del apetito (revisado por Rother, Sylvetsky y Schffman, 2015).

Aun cuando la absorción de este ENC es relativamente poca, en el estudio de Sylvetsky, Gardner y Rother (2015) se reportó la presencia de ENC en muestras de leche de mujeres en etapa de lactancia. En el 65% de las muestras, ENC como la sacarina, la sucralosa y el acesulfame K estuvieron presentes en la leche materna en concentraciones significativas. Los anterior nos indica que los lactantes amamantados están frecuentemente expuestos a estos ENC. Adicionalmente, los trasportadores y enzimas partícipes en el metabolismo de la sucralosa son inmaduros en neonatos y lactantes; la expresión de P-gp es baja al nacer y los niveles del CYP3A4 en recién nacidos de un mes solo llegan al 30-40% de su totalidad. Lo anterior implica que posiblemente la absorción de sucralosa es mayor en el neonato y su excreción retrasada (Abou-Donia, El-Masry, Abdel-Rahman, McLendon y Schiffman, 2008). En cuanto a los efectos de la exposición prenatal o posnatal a ENC, en un estudio realizado en hembras de ratón se administró durante

la gestación y la lactancia una solución mixta de sucralosa y acesulfame K, en concentraciones menores a la ingesta diaria admisible (IDA), reportándose en la descendencia una alteración metabólica y en la microbiota intestinal. Estos hallazgos sugieren que los descendientes podrían desarrollar enfermedades metabólicas futuras (Cavagnari, 2019; Olivier-Van, S. Rother, K y Hanover, J, 2019).

### **3.3.3 Stevia**

*Stevia rebaudiana*, es una planta selvática subtropical del alto Paraná, en Paraguay, llamada guaraní o “yerba dulce”, donde era utilizada por los nativos como planta medicinal. El botánico suizo Moisés Santiago Bertoni fue el primero que la describió, en 1887, detallando su sabor dulce; en 1900, el químico paraguayo Ovidio Rebaudi, logró aislar los principios activos responsables de su dulzor el cual se debe a que esta planta produce en las hojas un endulzante natural, llamado popularmente Stevia, que no aporta calorías y cuyo poder endulzante es 300 veces mayor que la sacarosa. El stevia como endulzante, en sí se refiere a los glucósidos de esteviol (figura 3), los cuales fueron aislados e identificados como esteviósido, esteviolbiósido, rabaudiósido A, B, C, D, E y F y dulcósido (Salvador-Reyes, R. Sotelo-Herrera, M. Paucar-Menacho, L, 2014). Los glucósidos de esteviol pasan completamente intactos por el tracto gastrointestinal superior; una vez que llegan al colon, se recortan las unidades de glucosa y se hidrolizan en esteviol, después de su paso por la vena porta, este llega al hígado, se metaboliza, formando glucorónido de esteviol, el cual finalmente es excretado por la orina (Laviada-Molina et al., 2017). Ante la creciente demanda de productos *light*, el stevia como ENC ha tomado un sitio muy importante en la canasta familiar. Se emplea como endulzante de mesa, en la elaboración de bebidas, dulces, mermeladas, chicles, pastelería, confituras, yogures, entre otros (Durán et al., 2013). Los productos derivados de la planta que la produce se están comercializando como naturales debido a su origen vegetal (Sclafani, Bahrani, y Zukerman, 2010). En estudios con ratas, el stevia no mostro efectos tóxicos en embriones, ni afectó la fertilidad o la progresión de la gestación (Durán et al., 2017). Sin embargo, no hay suficientes datos que informen los efectos adversos del consumo de stevia en humanos. Cabe resaltar que la seguridad para el consumo humano, de los extractos de la hoja de *S. rebaudiana* cruda sigue siendo

controvertida y no recomendada (Ruiz-Ruiz, Moguel-Ordoñez y Segura Campos, 2015).

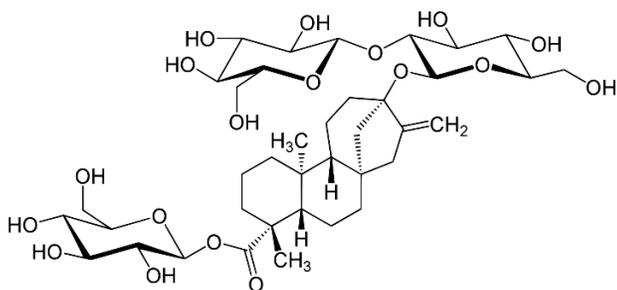


Figura 3. Estructura de un glucósido de esteviol. De Yikrazuul - Trabajo propio; ISBN 3-540-40291-8, Dominio público, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=9149312>

Adicionalmente, en el estudio de Villanueva et al., 2017, se analizó el efecto del consumo crónico de agua endulzada con stevia al 0.8% sobre el peso corporal de ratas Wistar; los resultados mostraron que consumir stevia influye en la acumulación de tejido adiposo, asociada a una mayor ingesta de alimento y por consecuencia una ganancia de peso mayor en comparación con el grupo control.

### **3.4 Efecto sobre la saciedad asociados al consumo de endulzantes no calóricos**

Existe evidencia experimental y epidemiológica que correlaciona positivamente el consumo de ENC y la ganancia de peso (revisado por Yang, 2010). Estudios realizados en animales han sugerido que el consumo de estos compuestos durante el período perigestacional, puede inducir a largo plazo un fenotipo adverso que predispone a la descendencia a desarrollar enfermedades metabólicas posteriores como la obesidad (Araújo, Martel y Keating, 2014).

Para explicar la relación entre el consumo de ENC y la ganancia de peso, se ha propuesto que, al no poseer capacidad de saciedad, los ENC podrían causar la sensación de hambre estimulando comer en exceso; incluso podrían activar los receptores del gusto, creando adicción al sabor dulce (Durán et al., 2013). Además, los edulcorantes sin calorías no activan centralmente los sistemas hipotalámicos ni los de recompensa de la misma manera que los endulzantes calóricos (Gómez-Vázquez, 2017), apoyando la hipótesis de que el consumo de sabores dulces en la

ausencia de calorías produce señalizaciones cerebrales significativamente diferentes en comparación con las emitidas por el consumo de sabores dulces asociados con las calorías, y que con el tiempo estos efectos pueden contribuir a un balance energético positivo y el aumento de peso corporal (Duran et al., 2013).

En un estudio realizado en humanos Hill et al., 2014 se demostró que el consumo de ENC puede influir en la preferencia a alimentos densos en energía y promover comportamientos que fomenten un mayor consumo de calorías. Estos resultados son consistentes con estudios recientes que demuestran que el consumo regular de ENC puede alterar las vías neuronales responsables de la respuesta hedónica a los alimentos. Por ejemplo, la investigación de Rudenga y Small (2012) indicó que un consumo frecuente de ENC alteró negativamente las respuestas a la sacarosa en la amígdala y en la ínsula, lo que provoca una respuesta de placer disminuida a los alimentos dulces. Esto, con el tiempo podría promover el aumento de peso como resultado de cambios psicológicos a través de la compensación de calorías (Kringelbach, 2005).

Hasta ahora se ha presentado información sobre la obesidad, su etiología y epidemiología, así como su relación con el consumo de bebidas azucaradas; también se ha hablado sobre endulzantes no calóricos, sus generalidades, efectos fisiológicos, así como su uso en la industria de alimentos y bebidas como una medida para mitigar las alzas en la prevalencia de la obesidad. A continuación, se abordará el tema de programación fetal y la influencia de la dieta materna en establecimiento de preferencias alimentarias y su posible contribución a la excesiva ganancia de peso corporal.

### **3.5 Programación fetal, alimentación materna y establecimiento de preferencias alimentarias**

La gestación es un periodo de vital importancia, complejo, donde el ser que se está gestando, además de incrementar su masa celular, se desarrolla y madura morfológicamente para adquirir de forma progresiva capacidades funcionales. Durante este periodo, confluyen multitud de factores que implican que la vida del ser fracase o se desarrolle con total o parcial éxito. Durante la gestación un individuo

puede desarrollar sensibilidad a factores del medio ambiente los cuales en poco tiempo definirán el entorno biológico en el cual vivirá a mediano y largo plazo, afectando la expresión de genes sin alterar la secuencia del ADN en el desarrollo placentario y fetal (Sánchez-Muñiz, Gesteiro, Espárrago, Rodríguez y Bastida, 2013).

La vida intrauterina suele ser el periodo más crítico y de mayor riesgo en un ser, ya que durante el desarrollo embrionario además de la formación de tejidos y órganos se lleva a cabo un proceso conocido como programación fetal (Moreno, 2016). Este complejo proceso puede tener repercusiones en las condiciones de un individuo al nacer o bien traer consecuencias en su desarrollo físico e intelectual a lo largo de su existencia, así como condicionar la posterior aparición de enfermedades no transmisibles (Basain, et al. 2014). Es por lo anterior que es justificable la atención prioritaria al embarazo; la nutrición de la madre tiene un efecto determinante sobre el crecimiento fetal y el peso del recién nacido; el desarrollo del feto también se encuentra directamente relacionado con otros factores nutricionales maternos como el peso previo a la concepción y la ganancia de peso durante el embarazo (Yunes, Barrios, Ávila y Duarte, 2011). Una inadecuada nutrición materna durante este periodo da como resultado alteraciones permanentes a ciertas funciones metabólicas, estructurales y fisiológicas del feto (Kwon y Kim, 2017). Por ejemplo: la restricción de nutrientes durante la gestación, la deficiente calidad de la dieta materna y el embarazo a temprana edad incrementan el riesgo de presentar un bajo peso al nacer en el neonato. Un peso al nacer menor a 2500 g (considerado como bajo), está asociado con el desarrollo futuro de enfermedades cardiometabólicas implicando para el individuo el doble de riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares y diabetes (Casanello, et al., 2015).

Por otra parte, las preferencias de sabor (dulce, ácido, salado, amargo y umami) tienen un fuerte mecanismo innato. Las sustancias dulces y saladas son preferidas, mientras que las sustancias amargas son rechazadas innatamente. Sin embargo, estas tendencias pueden ser modificadas por experiencias pre y postnatales (Beauchamp y Mennella, 2009). La influencia de los alimentos que consume la madre es determinante durante el embarazo, ya que los sabores derivados de estos

alimentos son transmitidos al líquido amniótico y deglutidos por el feto. Consecuentemente, el tipo de comida que consume la madre y los sabores de su cultura alimentaria pueden ser experimentados por los bebés desde mucho antes de su primera exposición a alimentos sólidos. Después del nacimiento, algunos de estos sabores serán experimentados por el neonato a través de la leche materna (Tapia, 2013). Estas experiencias sensoriales prenatales y posnatales tempranas establecen el escenario para futuras elecciones de alimentos y son importantes para establecer hábitos alimentarios de por vida (Beauchamp y Mennella, 2009).

Debido a las altas prevalencias de SyO que afectan a las sociedades desarrolladas y en vías de desarrollo y a que estas afecciones implican el consumo excesivo de algunos alimentos, es importante comprender los factores que determinan la elección de alimentos, en particular la comprensión de los factores primitivos, para diseñar estrategias y recomendaciones que contribuyan a la mejora de la salud del infante, niño, y adulto (Beauchamp y Mennella, 2009). Diversos estudios con roedores han reportado que las crías de hembras gestantes alimentadas con dietas altamente apetecibles (altas en grasas, altas en azúcares) muestran una mayor preferencia por sacarosa y grasa comparada con las crías de las hembras con alimentación control (Bayol, Farrington y Stickland, 2007; Vucetic, Kimmel, Totoki, Hollenbeak y Reyes, 2010). Adicionalmente, el consumo de comida “chatarra” por parte de la madre durante la lactancia promueve en los críos una preferencia exacerbada por alimentos ricos en grasas, azúcar y sal, sobre los alimentos altos en proteínas y fibra (Bayol et al., 2007).

Por otra parte, en un estudio realizado en hembras de ratón, se encontró que el consumo de Acesulfame-K durante la gestación y lactancia aumenta la preferencia de las crías, en la etapa adulta, al consumo de bebidas con el mencionado endulzante y adicionalmente al de bebidas azucaradas (Zhang et al., 2011). Toda esta evidencia nos sugiere que la exposición durante la gestación y la lactancia a ciertos alimentos o sustancias tiene un efecto en el establecimiento de preferencias alimentarias a corto o largo plazo. Las posibles consecuencias de la exposición a ENC durante la gestación y lactancia es un área de investigación fértil debido a la falta de estudios de esta naturaleza. En la presente investigación se explorará el

posible efecto de la exposición a ENC durante la gestación y la lactancia en las preferencias alimentarias, peso corporal e indicadores metabólicos en la descendencia de ratas Wistar.

#### **4. Problema de investigación**

La obesidad es conocida como la gran epidemia del siglo XXI. En México, en adultos, la prevalencia combinada de SyO es de 71.2%, siendo mayor en mujeres que en hombres, además, la categoría de obesidad mórbida es 2.4 veces más alta en el sexo femenino. Esto es preocupante ya que SyO están relacionados con el incremento de ENT como, diabetes, hipertensión y enfermedades cardiovasculares. Asimismo, de acuerdo con la ENSANUT 2016, más del 50% de los mexicanos consume varias veces a la semana bebidas azucaradas, cuya ingesta se ha relacionado directamente con el desarrollo de SyO. En respuesta a esta problemática, la industria alimentaria para disminuir el uso de azúcares añadidos en las bebidas y alimentos, ha decidido utilizar endulzantes que no aportan calorías a estos productos, con el fin de no contribuir con las altas prevalencias de sobrepeso u obesidad. Adicionalmente, en un intento por prevenir un excesivo aumento de peso durante el embarazo, el consumo de bebidas o alimentos endulzados con ENC puede ser alentado en la mujer gestante o lactante. En la actualidad, no existe evidencia suficiente para recomendar el consumo de estas sustancias durante la gestación y lactancia, sin embargo, tampoco la existe para contraindicarla.

Por otra parte, estudios han demostrado que la mala nutrición durante el embarazo es preocupante ya que la selección inadecuada de alimentos y bebidas, por parte de la madre, predispone en la descendencia preferencias de consumo tanto de alimentos como de bebidas, que favorecen la acumulación de grasa y el desarrollo de sobrepeso y obesidad, afectando directamente su salud y disminuyendo la calidad de años de vida. La influencia de la dieta materna de alimentos altamente calóricos durante el embarazo y la lactancia sobre la preferencia de los hijos a estos alimentos se ha documentado principalmente en experimentos con roedores, no así, el posible efecto del consumo materno de bebidas con ENC sobre el consumo de alimentos altos en energía y la ganancia de peso corporal.

Lo anterior nos lleva a plantear la siguiente pregunta de investigación: ¿La exposición a bebidas endulzadas no calóricas durante la gestación y lactancia modifica la ganancia de peso corporal, la ingesta calórica y los indicadores bioquímicos en la descendencia de la rata Wistar?

## **5. Justificación**

El consumo de bebidas endulzadas en México se consolidó desde los años sesenta, al convertirse en parte de la dieta habitual. La ingestión de energía proveniente de las bebidas representa 21% del consumo total de energía de adolescentes y adultos mexicanos, una verdadera preocupación para la salud pública en México a partir de la década de los sesenta. Por esta razón la industria optó por utilizar sustitutos de azúcar como los ENC para no afectar el sabor potencialmente dulce de las bebidas, pero sí disminuir la energía que proporcionaban estas, sin embargo, estudios han sugerido que los ENC pueden tener efectos adversos sobre la ganancia de peso corporal, el metabolismo e incluso el microbiota intestinal.

Ante el escenario actual de la prevalencia de SyO en mujeres en edad fértil y considerando las complicaciones que genera una ganancia de peso excesiva durante el embarazo, el nutriólogo como profesional de la salud debe brindar orientación nutricional para prevenir el aumento excesivo de peso en la mujer gestante y saber si debe recomendar o contraindicar el consumo de ENC durante este periodo. En este sentido, es importante también que el nutriólogo conozca acerca del establecimiento pre y perinatal de preferencias alimentarias (relacionados al consumo de alimentos ricos en grasas, bebidas azucaradas y/o edulcoradas) y sepa orientar a la población para el cuidado de la salud desde etapas tempranas.

La evidencia experimental acerca de las consecuencias de la exposición prenatal a alimentos altos en grasas sobre el desarrollo de la obesidad en crías expuestas, indican que prenatalmente se puede afectar el sistema de recompensa cerebral (sistema dopaminérgico), responsable de manifestar preferencias en el consumo de alimentos altos en grasas y azúcares, sin embargo, las consecuencias de la exposición prenatal a ENC sobre estas preferencias ha sido débilmente estudiada por lo que aún no hay suficiente evidencia científica.

Por lo anterior, es justificable, y resulta de gran relevancia, explorar en un modelo animal, el posible efecto de la exposición a ENC durante la gestación y lactancia, sobre la ingesta calórica, la ganancia de peso corporal y de adiposidad e indicadores metabólicos, esto para proporcionar evidencia que contribuya a esclarecer el debate sobre la recomendación o contraindicación del consumo materno de ENC durante la gestación y la lactancia.

## **6. Objetivos**

### **6.1 Objetivo general**

Evaluar el peso corporal, la ingesta calórica y los indicadores bioquímicos durante una prueba de alimento en ratas Wistar en gestación y lactancia expuestas a endulzantes no calóricos para determinar el efecto a la exposición vía materna.

### **6.2 Objetivos específicos**

- 1 Evaluar en la descendencia de ratas Wistar, el efecto de la exposición vía materna a bebidas con endulzantes no calóricos sobre el peso corporal e indicadores bioquímicos (glucosa, triacilglicéridos y colesterol total).
- 2 Analizar la ingesta calórica y la ganancia de peso corporal durante la prueba de alimento en la descendencia de ratas Wistar expuestas vía materna a bebidas con endulzantes no calóricos.
- 3 Determinar en las crías el efecto de la prueba de alimento sobre la acumulación del tejido adiposo y los indicadores bioquímicos (glucosa, triacilglicéridos y colesterol total) en la descendencia de ratas Wistar expuestas a bebidas con endulzantes no calóricos durante la gestación y la lactancia.

## **7. Hipótesis**

En la descendencia de la rata Wistar, la exposición a bebidas con endulzantes no calóricos aumenta la ingesta calórica, favorece la ganancia de peso corporal y altera los indicadores bioquímicos en comparación con los descendientes de ratas Wistar no expuestas.

## 8. Diseño metodológico

### 8.1 Tipo de estudio

El estudio realizado fue de tipo experimental y longitudinal, el cual tuvo un seguimiento aproximado de 17 semanas para cada grupo.

### 8.2 Secuencia general de la metodología experimental

A continuación, se representa la metodología del protocolo experimental, de manera cronológica los procedimientos realizados y las etapas experimentales del estudio (figura 4).

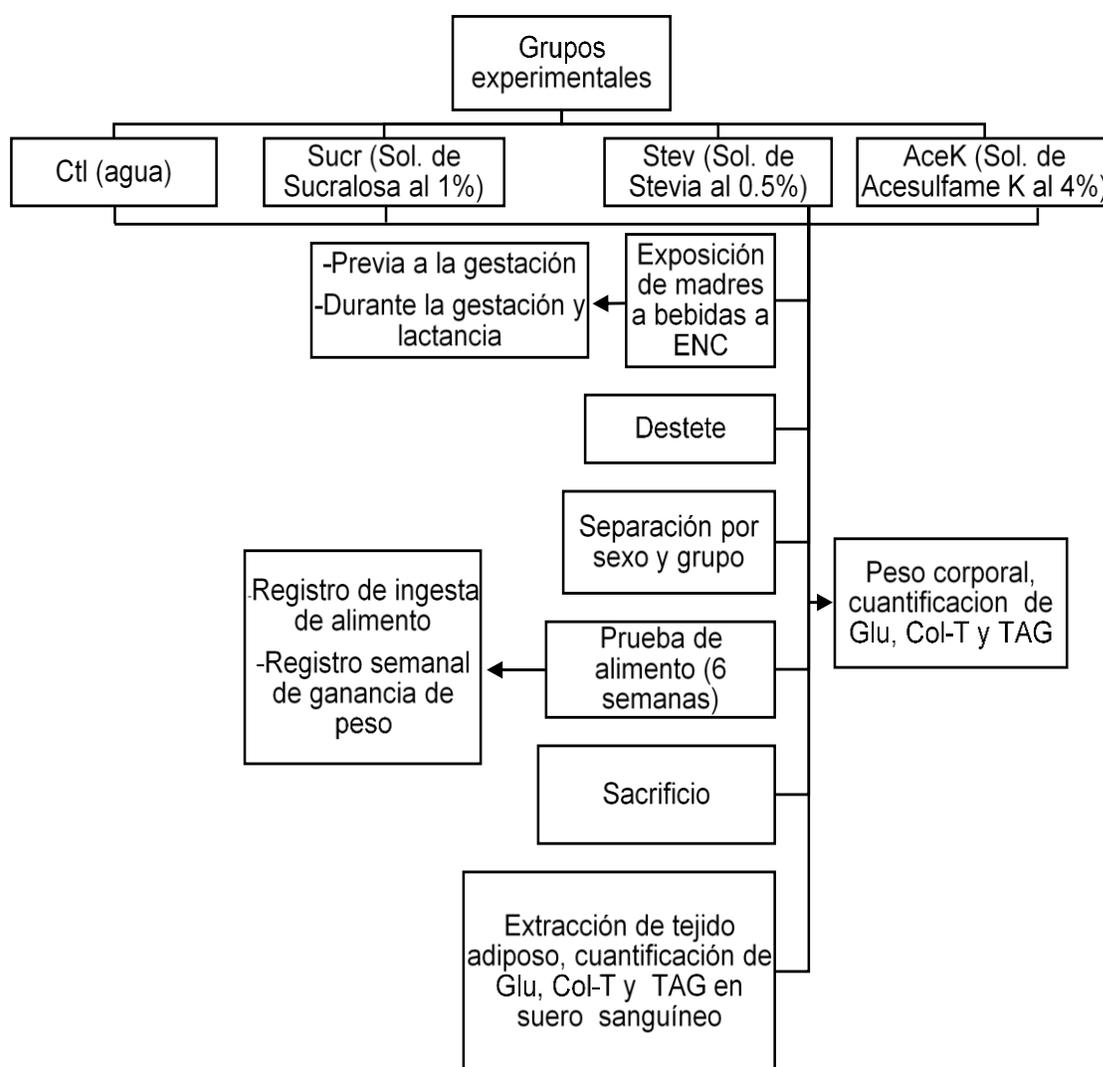


Figura 4. Diagrama de la secuencia general de la metodología experimental. (Ctl: grupo control; Sucr: grupo sucralosa; Stev: grupo stevia; AceK: grupo acesulfame K; ENC; Endulzantes no calóricos, SDDD: siete días después del destete; Glu: glucosa; Col-T: colesterol total; TAG: triacilglicéridos).

### **8.3 Ubicación espacio temporal**

La presente investigación se llevó a cabo, aproximadamente durante 9 meses, siendo el inicio en septiembre de 2017. Fue realizada en el Instituto de Ciencias de la Salud (ICSa) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), específicamente, en el Bioterio de la UAEH y en el laboratorio de Nutrición Molecular del Área Académica de Nutrición. El ICSa de la UAEH está localizado en el municipio de San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo.

### **8.4 Aspectos éticos**

El proyecto de investigación 130317 del cual se desprendió el presente proyecto de tesis fue sometido a evaluación por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la UAEH, el 13 de marzo de 2017 y aprobado, el 17 de marzo de 2017.

### **8.5 Animales de experimentación**

Inicialmente se utilizaron 24 ratas madres de la cepa Wistar Han (RccHan®: WIS, Envigo), hembras vírgenes de 8 semanas de edad y peso de entre 180 y 200 gramos, provenientes del bioterio, las cuáles fueron apareadas para la obtención de las crías utilizadas para la investigación. Un total de 96 crías de rata fueron utilizadas de las cuales 48 (24 machos y 24 hembras) fueron sacrificadas a la cuarta semana de vida y 48 (24 machos y 24 hembras) a la décima semana de vida, al término de una prueba de alimento, con duración de 6 semanas.

### **8.6 Condiciones de alojamiento**

A lo largo de todas las etapas de experimentación, los animales se alojaron en el bioterio, en cajas de acrílico, bajo condiciones controladas de temperatura y humedad, ciclos de luz/oscuridad de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad y libre acceso a alimentos y bebidas. Dependiendo de la etapa del experimento, los animales fueron alojados en grupos de tres integrantes, durante las etapas de exposición previa a la gestación y prueba de alimento, o de manera individual, específicamente durante las etapas de gestación y lactancia.

## 8.7 Etapas experimentales

### 8.7.1 Exposición de madres a bebidas endulzadas no calóricas previas a la gestación

Para esta etapa se utilizaron 24 hembras vírgenes de 8 semanas de vida. Se tuvieron 4 grupos experimentales (Control, Sucralosa, Stevia y Acesulfame K), de 6 hembras cada uno. Las hembras estuvieron expuestas durante 4 semanas al consumo de una bebida con ENC (especificada en la tabla 1) según el grupo experimental al que fueron asignadas aleatoriamente. Se colocaron 3 hembras por caja y tuvieron libre acceso a bebida y a alimento estándar (AE) el cual se elaboró según la formulación de la dieta para roedor AIN 93M.

**Tabla 1. Descripción de las soluciones suministradas a los grupos experimentales previo a la gestación y durante la gestación y lactancia**

<b>Grupo/abreviatura</b>	<b>Soluciones administradas</b>	<b>Kcal (100 mL)</b>
Control: Ctrl	Agua simple	0
Sucralosa: Sucl	Splenda® al 1%	4
Stevia: Stev	Stevia® al 0.5%	1.68
Acelsufame K: AceK	AzúcarBC® al 4%	15.2

Al término de las 4 semanas de exposición a ENC, las hembras madre fueron inducidas para aparearse con machos adultos. Se colocaron individualmente una hembra con un macho durante una semana. El apareamiento fue confirmado por la presencia del tapón espermático en la vagina de la hembra; este evento se consideró como el inicio de la gestación.

### 8.7.2 Exposición durante la gestación y lactancia a endulzantes no calóricos

Durante toda la gestación y el periodo de lactancia, las madres se alojaron en cajas individuales y tuvieron libre acceso a alimento y bebidas de acuerdo con el grupo experimental al que pertenecían. El alimento suministrado en esta etapa se elaboró tomando como referencia la formulación del alimento AIN 93G la cual está indicada para la alimentación balanceada de hembras gestantes y lactantes (anexo 1).

La gestación tuvo una duración aproximada de 21-22 días. Un día después del parto se ajustó a 6 el número de crías por camada (3 machos y 3 hembras, cuando fue posible). La lactancia se permitió hasta los 21 días después del nacimiento cuando las crías fueron destetadas y separadas según su sexo y grupo experimental, en jaulas de tres integrantes.

### **8.7.3 Sacrificio de animales una semana después del destete**

Siete días después del destete (SDDD), a las 4 semanas de edad, 12 crías por grupo (6 machos y 6 hembras) fueron pesadas y posteriormente sacrificadas, tras un ayuno de 8 horas, para la obtención de muestras sanguíneas a utilizarse en la determinación de indicadores metabólicos. El sacrificio fue por decapitación en una guillotina (Decapitator Rodent®, Rodent Guillotine, United States) previa anestesia por inhalación de isoflurano (Isofluran marca Vedco®).

### **8.8 Prueba de alimento**

Desde la cuarta y hasta la décima semana de vida semana, a las crías provenientes de cada grupo se les realizó una prueba de alimento, la cual se llevó a cabo a lo largo de 6 semanas. A partir de este momento y hasta la culminación del protocolo experimental, se registró semanalmente el peso corporal de cada animal utilizando una balanza (Triple Beam 700/800 series OHAUS®, China).

Para la prueba de alimento se tuvieron 4 grupos de 12 integrantes cada uno (6 machos y 6 hembras). Los grupos fueron nombrados tomando como referencia la bebida a la que fueron expuestos vía materna durante la gestación y la lactancia (figura 5). Esta prueba consistió en la colocación de cantidades previamente pesadas de 2 tipos de alimento: AIN 93M (al que denominamos alimento estándar: AE) y un alimento AIN 93M modificado con un contenido del 40% de grasa (aquí denominado alimento alto en grasa: AAG); ambos tipos de alimento fueron ajustados al 100% según los requerimientos diarios de vitaminas y minerales indicados para dietas AIN93M. Los animales consumieron a libre demanda el alimento de su preferencia. Como bebida se les colocó agua destilada. Se tomaron registros del consumo de alimentos y bebida los lunes, miércoles y viernes de cada semana. Cada uno de los registros fueron divididos por el número de animales en

cada caja. Con base en estos consumos y en el aporte calórico de cada gramo de alimento se calculó la ingesta semanal total de energía en Kcal (AE: 3.7 Kcal/g; AAG 6.67 Kcal/g).

Para la medición del consumo de alimento se utilizó una balanza (TANITA KD-160®, Australia); el volumen del agua ingerida se midió con una probeta de 1000 mL marca Kimax®.

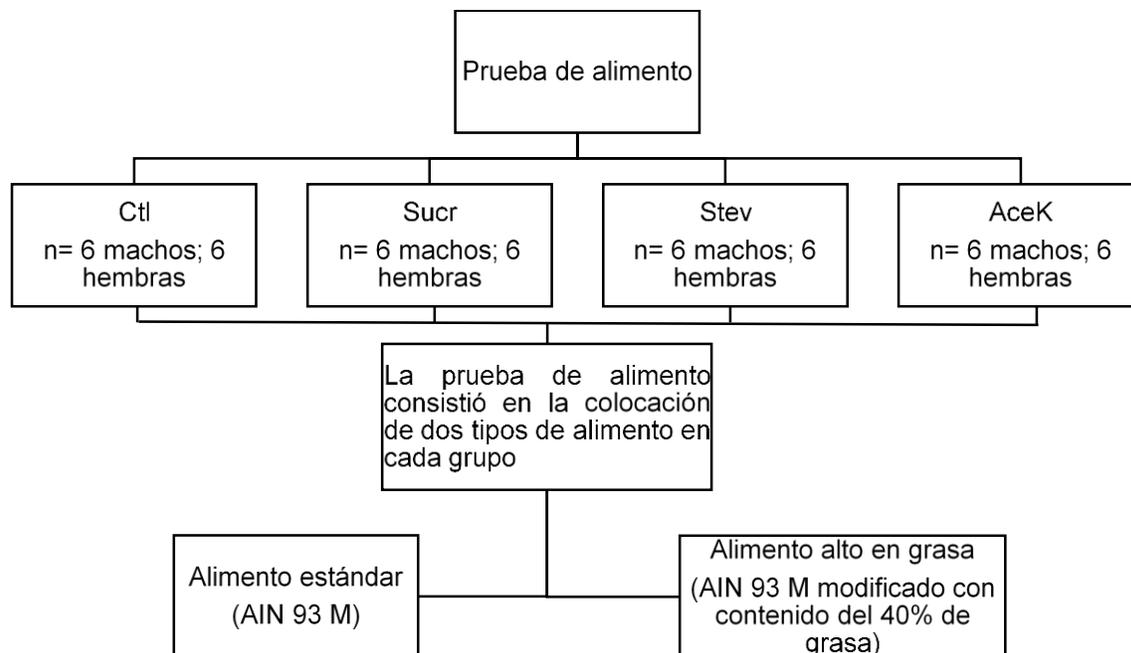


Figura 5. Esquema del tratamiento y asignación de los grupos experimentales para la prueba de alimento. Las crías de cada grupo experimental tuvieron acceso a dos tipos de alimento para su consumo a libre demanda y según la predilección.

## 8.9 Sacrificio de animales, determinación de indicadores metabólicos y disección de tejido adiposo

Siete días después del destete y culminada la prueba de alimento (semana 10 de vida), contemplando un ayuno de 8 horas (con la finalidad de tomar muestras de sangre en condiciones post absorbidas), los sujetos experimentales se anestesiaron con isoflurano. Se sacrificaron por decapitación para la recolección de sangre y suero, obtenido por centrifugación a 5000 rpm por 10 minutos para lo cual se usó un equipo (Hermie® Z216K, Germany). Los sueros se colocaron en microtubos debidamente etiquetados, se almacenaron a -30°C para la posterior determinación

de glucosa, colesterol total (Col-T) y triacilglicéridos (TAG) utilizando kits enzimáticos marca (Wiener Lab®, Argentina) y siguiendo los protocolos que marca el fabricante.

Culminada la prueba de alimento, después del sacrificio y extracción de sangre, los animales se abrieron de la parte media abdominal para obtener por disección: 1) el tejido adiposo mesentérico, que se encuentra en la parte abdominal abarcando el mesentérico (yeyuno e íleon), mesocolon transverso y sigmoide y mesogástrico; 2) el tejido adiposo gonadal, ubicado en la parte baja del animal donde están los órganos reproductores de las hembras (ovarios y cuernos uterinos) y los machos (sobre la superficie de los testículos y epidídimo); y 3), el tejido retroperitoneal, el cual abarca parte de la cavidad abdominal que se encuentra en el peritoneo parietal sobre la superficie de la pared abdominopélvica. Cada tejido se pesó por separado utilizando una báscula analítica marca (OHAUS modelo Adventurer Pro®, China).

El peso final de los animales fue utilizado para calcular el peso relativo de cada tejido con la siguiente ecuación (Olguín et al., 2015):

$$\text{Peso relativo de tejido (\%)} = \frac{\text{Peso absoluto del tejido (g)}}{\text{Peso corporal total (g)}} \times 100$$

Además, se sumaron los pesos absolutos de cada tipo de tejido y se calculó con la misma ecuación el % de tejido adiposo “total”.

### **8.10 Análisis de resultados**

Para el análisis de resultados se utilizó el programa estadístico SPSS® (*Statistical Package for Social Studies*) versión. 21.0 para Windows. Inicialmente se realizó un análisis exploratorio y gráfico de los datos de cada variable, verificándose su distribución normal. Los datos se presentaron como medias  $\pm$  error estándar (EE). La significación estadística, se determinó mediante un ANOVA de una vía y un análisis *post hoc* de Tukey para realizar las comparaciones de los resultados del consumo AE, AAG, peso corporal, indicadores bioquímicos y tejido adiposo entre los diferentes grupos. Las diferencias que tuvieron valores de  $p < 0.05$  se consideraron estadísticamente significativas. Las comparaciones entre el consumo

calórico de AE y AAG dentro de cada grupo se realizaron mediante una prueba *t* de Student.

## 9. Resultados

### 9.1 Peso corporal e indicadores bioquímicos de las crías de rata Wistar siete días después del destete

Para evaluar el peso de las crías de los diferentes grupos experimentales expuestos a bebidas con ENC durante la gestación y lactancia, se realizó el pesaje de cada uno de los animales de cada grupo, siete días después del destete. Puesto que una prueba *t* realizada inicialmente no reveló diferencias significativas en el peso entre machos y hembras dentro de los grupos, se reportan los promedios de todas las crías para el análisis de peso entre los grupos experimentales (n=12 por grupo). Cuando se realizó este último, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ , ANOVA) entre los grupos. Según el análisis realizado, los animales que estuvieron expuestos a Stev y AceK durante la gestación y lactancia mostraron un peso significativamente mayor respecto a las crías de las madres de los grupos Ctl y Sucr (ANOVA,  $p < 0.05$ ). Los grupos con mayor peso corporal fueron en orden decreciente AceK con  $71.66 \pm 2.74$  g, Stv con  $67.33 \pm 3.00$  g y Sucr con  $50.36 \pm 2.32$  g. Las crías del grupo Ctl que presentaron un peso promedio de  $48.80 \pm 1.46$ g (Tabla 2).

**Tabla 2. Peso corporal de las crías de ratas Wistar expuestas vía materna a endulzantes no calóricos, siete días después del destete**

Grupo experimental	Peso en gramos SDDD
Control	$48.80 \pm 1.46^a$
Sucralosa	$50.36 \pm 2.32^a$
Stevia	$67.33 \pm 3.00^b$
Acesulfame K	$71.66 \pm 2.74^b$

Los valores representan el promedio de los pesos  $\pm$  EE (Error Estándar de la media). Las letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos (ANOVA de una vía *Post Hoc* Tukey;  $p < 0.05$ ), SDDD; siete días después del destete.

Por otra parte, la tabla 3 muestra las medias  $\pm$  EE de los indicadores bioquímicos encontrados en los grupos con exposición durante la gestación y lactancia a endulzantes no calóricos y el grupo Ctl. Ya que el análisis estadístico realizado inicialmente no reveló diferencias significativas (intra-grupo) entre machos y

hembras en los valores de los indicadores metabólicos analizados, utilizamos los promedios de todas las crías del mismo grupo para el análisis de estos indicadores (n=12 por grupo). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos experimentales en los valores séricos de glucosa, TAG y Col-T. El valor de la concentración sérica de glucosa entre los grupos varió entre  $82.66 \pm$  y  $95.65 \pm$  mg/dL, no encontrándose diferencias significativas ( $p > 0.05$ , ANOVA) Los valores de triacilglicéridos séricos no mostraron diferencias significativas entre los grupos ( $p > 0.05$ , ANOVA) variando entre  $172.76 \pm$  y  $206.33 \pm$  mg/dL, donde el grupo Sucr mostró el valor más alto. Los valores de colesterol total no mostraron diferencias significativas entre los grupos ( $p > 0.05$ , ANOVA) y variaron entre  $55.87 \pm 3.54$  y  $62.86 \pm 4.23$  mg/dL (tabla 3).

**Tabla 3. Indicadores bioquímicos de las ratas Wistar expuestas vía materna a endulzantes no calóricos, siete días después del destete**

Grupo	Glucosa (mg/dL)	Triacilglicéridos (mg/dL)	Col-T (mg/dL)
Control	$83.41 \pm 5.08^a$	$202.50 \pm 4.14^a$	$62.86 \pm 4.23^a$
Sucralosa	$95.65 \pm 8.20^a$	$206.33 \pm 15.40^a$	$57.81 \pm 2.42^a$
Stevia	$84.92 \pm 4.69^a$	$191.17 \pm 2.69^a$	$55.87 \pm 3.54^a$
Acesulfame K	$82.36 \pm 7.36^a$	$172.56 \pm 3.85^a$	$58.96 \pm 3.85^a$

Los valores representan el promedio de las concentraciones en mg/dL de los indicadores bioquímicos  $\pm$  el error estándar de la media (EE). Las letras diferentes indican diferencias significativas entre los grupos (ANOVA de una vía *Post Hoc* Tukey,  $p < 0.05$ ). Col-T: Colesterol total.

## 9.2 Ingesta de energía de las crías de rata Wistar durante la prueba de alimento

El análisis de todas las mediciones registradas durante las seis semanas de duración de la prueba de alimento reveló diferencias significativas entre los grupos y sus consumos calóricos diarios, tanto los provenientes de los dos tipos de alimento ofertados como del consumo calórico total durante la prueba; los promedios y las diferencias significativas son presentadas en la tabla 4. Para los machos, en el periodo de tratamiento mostraron diferencias significativas en el consumo total de Kcal y en el consumo de Kcal provenientes del alimento alto en grasa (AAG; ANOVA,  $p < 0.05$  en ambos casos), sin encontrar diferencias significativas entre las

Kcal provenientes del alimento estándar (AE; ANOVA,  $p < 0.05$ ). Los machos del grupo AceK presentaron un consumo significativamente mayor de Kcal al día provenientes del AAG, con  $67.23 \pm 5.04$  Kcal, en comparación con el grupo Ctl y Sucr que consumieron  $44.08 \pm 4.34$  y  $44.64 \pm 2.23$  y Kcal, respectivamente. En cuanto al consumo total de Kcal, los machos de los grupos AceK y Stev tuvieron un mayor consumo calórico diario en comparación del grupo Ctl y Sucr. Al comparar dentro de cada grupo el consumo calórico proveniente del AN y AAG se encontraron en machos diferencias significativamente en el grupo Ctl y Sucr con un consumo mayor de AE (*t* de Student,  $p < 0.05$  en ambos casos). Por el contrario, los machos de AceK consumen de manera significativa más Kcal diarias provenientes del AAG (*t* de Student,  $p < 0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas al comparar los consumos calóricos de ambos tipos de alimento en los machos del grupo Stev (*t* de Student,  $p > 0.05$ ; Tabla 4).

**Tabla 4. Consumo calórico diario promedio de alimento estándar y alimento alto en grasa durante la prueba de alimento de machos y hembras expuestos vía materna a endulzantes no calóricos**

<b>Machos</b>			
<b>Energía de cada tipo de alimento y energía total (Kcal), <math>\pm</math> EE</b>			
<b>Grupo</b>	<b>AE</b>	<b>AAG</b>	<b>Total</b>
Control	$55.28 \pm 2.83^{a*}$	$44.08 \pm 4.34^a$	$99.31 \pm 5.49^a$
Sucralosa	$52.86 \pm 1.74^{a*}$	$44.64 \pm 2.23^a$	$97.42 \pm 3.63^a$
Stevia	$58.03 \pm 3.24^a$	$58.42 \pm 3.80^{ab}$	$115.81 \pm 6.97^b$
Ace K	$52.03 \pm 2.84^a$	$67.23 \pm 5.04^{b*}$	$119.07 \pm 7.73^b$
<b>Hembras</b>			
Control	$37.43 \pm 1.65^a$	$38.74 \pm 2.90^a$	$75.11 \pm 1.89^a$
Sucralosa	$47.49 \pm 2.12^b$	$56.91 \pm 2.13^{bc*}$	$104.19 \pm 3.84^c$
Stevia	$38.53 \pm 1.63^a$	$44.51 \pm 4.55^{ab*}$	$81.99 \pm 5.89^{ab}$
Ace K	$36.77 \pm 1.90^a$	$60.15 \pm 3.92^{c*}$	$96.04 \pm 5.31^{bc}$

Los valores representan el promedio de consumo diario en Kilocalorías  $\pm$  EE ingeridos de alimento estándar (AE), alimento alto en grasa (AAG) y el consumo total de Kcal. Las letras (<sup>a, b, c</sup>) diferentes indican diferencias significativas en los grupos al comparar el mismo tipo de alimento (ANOVA de una vía *Post Hoc* Tukey,  $p < 0.05$ ). El asterisco (\*) representa las diferencias de consumo entre AE y AAG dentro de cada grupo (prueba *t* de Student,  $p < 0.05$ ); PA; prueba de alimento, ENC; endulzantes no calóricos.

En el caso de las hembras, se encontraron diferencias significativas entre los grupos en todos los consumos calóricos analizados (ANOVA,  $p < 0.05$ ). El consumo calórico diario proveniente del AE fue significativamente mayor en las ratas del grupo Sucr en comparación con las Kcal consumidas por las hembras del resto de los grupos

(ANOVA,  $p < 0.05$ ). Las ratas de los grupos Sucr y AceK presentaron un consumo calórico diario significativamente mayor proveniente del AAG, con  $56.91 \pm 2.13$  y  $60.15 \pm 3.92$  Kcal respectivamente, en comparación con el grupo Ctl y Stev, con  $38.74 \pm 2.90$  y  $44.51 \pm 4.55$  respectivamente. En el consumo diario total de Kcal, todos los grupos expuestos a bebidas no calóricas presentaron valores significativamente más altos en comparación con el grupo Ctl que tuvo el menor consumo diario de energía con  $75.11 \pm 1.89$  Kcal. Al comparar dentro de cada grupo el consumo calórico proveniente del AE y AAG se encontró que las hembras del grupo control ingieren igual cantidad de Kcal provenientes del AE y AAG ( $t$  de Student,  $p > 0.05$ ). Por el contrario, las hembras del resto de los grupos consumen de manera significativa más Kcal al día provenientes del AAG ( $t$  de Student,  $p < 0.05$ , para todos los casos; Tabla 4).

En la tabla 5 se muestra el consumo semanal promedio en Kcal consumidas de AE, AAG y consumo total para cada semana de la PA además de la media del consumo de las 6 semanas de la prueba. En la tabla podemos observar que, tanto para machos como para hembras, semana a semana se encontraron diferencias significativas entre los grupos en las ingestas calóricas totales, y provenientes del AE y AAG.

Para el caso de los machos, al analizar los resultados de las ingestas calóricas promediadas de todas las semanas, se puede observar que no hay diferencias significativas entre los grupos en el consumo calórico proveniente del AE (ANOVA,  $p > 0.05$ ); en cuanto al consumo de Kcal consumidas de AAG y consumo total se observó el mismo patrón: los animales del grupo Stev y AceK consumen de manera significativa mayor cantidad de Kcal totales y provenientes del AAG en comparación con los grupos Ctl y Sucr (ANOVA,  $p < 0.05$  en todos los casos). Al comparar dentro de cada grupo el promedio semanal del consumo calórico proveniente de AE y AAG se encontró que el grupo Ctl y Sucr tuvieron un consumo significativamente mayor de Kcal provenientes del AN en comparación con las Kcal del AAG ( $p < 0.05$ ,  $t$  de Student).

Por el contrario, los machos del grupo de Acesulfame K mostraron un mayor consumo calórico de AAG presentando una diferencia estadísticamente significativa en comparación con el AE ( $p < 0.05$ , *t* de Student). El grupo de Stev no presentó diferencias significativas entre los consumos calóricos de ambos tipos de alimento ( $p > 0.05$ , *t* de Student).

En las hembras al analizar las ingestas calóricas promediadas de todas las semanas (tabla 5) se encontró que el grupo Ctl, Sucr y AceK consumen la misma cantidad de energía proveniente del AE (ANOVA),  $p > 0.05$ , mientras que el grupo Sucr fue el que presentó el mayor consumo calórico de este alimento (ANOVA,  $p < 0.05$ ). En cuanto a la ingesta calórica de AAG y la ingesta total de energía se encontró la misma tendencia: los grupos Sucr y AceK presentaron un consumo significativamente mayor de AAG y de energía total que los grupos Ctl y Stev (ANOVA  $p < 0.05$ , en todos los casos). Al comparar dentro de cada grupo las ingestas calóricas promedio provenientes del AE vs AAG, se encontró que todos los grupos que estuvieron expuestos vía materna a ENC (Sucr, Stev y AceK) presentaron un consumo calórico significativamente mayor, proveniente del AAG (*t* de Student,  $p < 0.05$ ) mientras que el grupo Ctrl consumió la misma cantidad de Kcal de AE y AAG (*t* de Student,  $p > 0.05$ ).

### **9.3 Peso corporal semanal de las crías de rata Wistar durante la prueba de alimento**

La tabla 6 muestra, tanto para machos como para hembras, el peso corporal de los animales experimentales en las seis semanas de duración de la prueba de alimento. En los machos se puede observar que, a lo largo de las semanas, el grupo Ctl y el grupo Sucr, siempre mantuvieron pesos estadísticamente iguales (ANOVA,  $p > 0.05$  en todos los casos). En todos los registros semanales, el grupo Ctl siempre mostró pesos significativamente menores comparados con los machos de los grupos Stev y AceK (ANOVA,  $p < 0.05$ , en todos los casos). Al final de la semana 6, (al final de la prueba de alimento) el grupo Ctl pesó en promedio  $248.33 \pm 8.56$  g y el grupo Sucr  $253.83 \pm 14.52$  g, no mostrando diferencias significativas entre ellos. En contraste con los machos de Stev y Acek mostraron pesos significativamente mayores al control alcanzando pesos de  $290.66 \pm 5.68$  y  $302.33 \pm 5.56$  g respectivamente.

**Tabla 5. Consumo calórico semanal promedio de alimento estándar y alimento alto en grasa durante la prueba de alimento de machos y hembras expuestos vía materna a endulzantes no calóricos (Kcal ± EE)**

Machos												
Sem	Control			Sucralosa			Stevia			Acesulfame K		
	AE	AAG	Total	AE	AAG	Total	AE	AAG	Total	AE	AAG	Total
1	457.30± 0.06 <sup>c*</sup>	190.36± 0.29 <sup>a</sup>	648.12± 0.72 <sup>c</sup>	255.95± 21.97 <sup>a</sup>	240.57± 33.93 <sup>ab</sup>	496.47± 11.91 <sup>a</sup>	358.22± 3.38 <sup>b*</sup>	309.12± 9.35 <sup>b</sup>	667.02± 6.01 <sup>c</sup>	257.30± 12.42 <sup>a</sup>	287.51± 1.92 <sup>ab*</sup>	544.81± 9.49 <sup>b</sup>
2	412.03± 0.01 <sup>b*</sup>	182.24± 0.08 <sup>a</sup>	594.46± 0.26 <sup>a</sup>	363.59± 8.16 <sup>a*</sup>	193.64± 12.94 <sup>a</sup>	557.61± 4.74 <sup>a</sup>	362.61± 9.46 <sup>a</sup>	434.56± 4.95 <sup>b*</sup>	797.39± 4.55 <sup>b</sup>	377.67± 8.45 <sup>ab</sup>	390.29± 0.66 <sup>b</sup>	768.40± 22.31 <sup>b</sup>
3	286.13± 0.07 <sup>a</sup>	401.44± 0.29 <sup>a*</sup>	687.68± 0.15 <sup>a</sup>	351.38± 17.67 <sup>ab</sup>	353.11± 1.57 <sup>a</sup>	704.99± 16.78 <sup>a</sup>	416.26± 1.87 <sup>b</sup>	434.87± 2.07 <sup>a*</sup>	851.38± 0.22 <sup>b</sup>	411.28± 29.50 <sup>b</sup>	496.03± 6.40 <sup>a*</sup>	907.74± 36.78 <sup>b</sup>
4	386.53± 0.26 <sup>a</sup>	467.55± 0.29 <sup>b*</sup>	854.48± 0.28 <sup>a</sup>	452.43± 0.01 <sup>a*</sup>	375.63± 9.51 <sup>a</sup>	828.06± 9.58 <sup>a</sup>	656.73± 33.28 <sup>c</sup>	686.15± 2.50 <sup>c</sup>	1343.13 ±35.60 <sup>b</sup>	563.64± 4.50 <sup>b</sup>	891.56± .39 <sup>d*</sup>	1455.20 ±10.04 <sup>c</sup>
5	275.17± 0.09 <sup>a*</sup>	178.44± 0.27 <sup>a</sup>	453.47± 0.28 <sup>a</sup>	453.49± 7.84 <sup>b</sup>	455.20± 1.03 <sup>c</sup>	908.62± 6.79 <sup>c</sup>	267.71± 32.62 <sup>a</sup>	302.59± 3.55 <sup>b</sup>	569.64± 29.06 <sup>b</sup>	199.58± 34.23 <sup>a</sup>	258.62± 3.82 <sup>ab*</sup>	457.88± 9.58 <sup>a</sup>
6	498.64± 0.17 <sup>b*</sup>	426.37± 0.31 <sup>b</sup>	924.50± 0.28 <sup>b</sup>	329.68± 9.77 <sup>a*</sup>	234.23± 27.01 <sup>a</sup>	563.59± 36.78 <sup>a</sup>	349.91± 6.47 <sup>a*</sup>	259.48± 2.66 <sup>a</sup>	609.27± 8.91 <sup>a</sup>	362.54± 8.14 <sup>a</sup>	474.47± .38 <sup>b*</sup>	836.65± 6.68 <sup>b</sup>
	385.96± 26.83 <sup>a*</sup>	307.73± 36.16 <sup>a</sup>	693.78± 30.42 <sup>a</sup>	367.75± 20.96 <sup>a*</sup>	308.61± 21.30 <sup>a</sup>	676.55± 47.56 <sup>a</sup>	401.90± 54.56 <sup>a</sup>	404.46± 33.68 <sup>a</sup>	806.30± 56.12 <sup>b</sup>	362.00± 21.85 <sup>a</sup>	466.41± 3.57 <sup>a*</sup>	828.44± 63.82 <sup>b</sup>
Hembras												
Sem	AE	AAG	Total	AE	AAG	Total	AE	AAG	Total	AE	AAG	Total
1	255.56± 10.42 <sup>b*</sup>	117.58± 0.14 <sup>a</sup>	373.50± 10.34 <sup>a</sup>	272.20± 34.37 <sup>b</sup>	365.34± 40.81 <sup>c*</sup>	637.43± 75.12 <sup>c</sup>	293.19± 5.30 <sup>b*</sup>	206.03± 7.65 <sup>b</sup>	499.71± 12.91 <sup>ab</sup>	168.74± 23.89 <sup>a</sup>	391.19± 8.51 <sup>c*</sup>	560.05± 5.32 <sup>bc</sup>
2	382.10± 10.10 <sup>b*</sup>	98.37± 39 <sup>a</sup>	480.75± 1.88 <sup>a</sup>	316.55± 22.29 <sup>a</sup>	354.64± 72.53 <sup>b</sup>	670.98± 94.92 <sup>b</sup>	270.89± 22.54 <sup>a</sup>	363.24± 21.92 <sup>b*</sup>	634.46± 0.64 <sup>ab</sup>	330.58± 2.58 <sup>ab</sup>	328.60± .40 <sup>b</sup>	659.85± 1.83 <sup>b</sup>
3	156.11± 12.68 <sup>a</sup>	423.03± 7.86 <sup>a*</sup>	579.18± 8.29 <sup>a</sup>	318.48± 32.99 <sup>b</sup>	481.85± 63.23 <sup>a*</sup>	800.93± 96.19 <sup>b</sup>	262.90± 0.29 <sup>b</sup>	338.64± 18.79 <sup>a*</sup>	601.88± 18.39 <sup>a</sup>	272.35± 5.69 <sup>b</sup>	417.12± 0.70 <sup>a*</sup>	689.81± 45.15 <sup>ab</sup>
4	275.27± 14.27 <sup>a</sup>	348.92± 19.47 <sup>a*</sup>	624.56± 5.28 <sup>a</sup>	321.59± 64.21 <sup>a</sup>	447.36± 40.29 <sup>a*</sup>	769.13± 104.42 <sup>a</sup>	381.53± 37.14 <sup>a</sup>	677.56± 31.33 <sup>b*</sup>	1059.32 ±5.61 <sup>b</sup>	368.47± 19.27 <sup>a</sup>	716.14± .37 <sup>b*</sup>	1084.63 ±14.28 <sup>b</sup>
5	196.00± 23.87 <sup>a</sup>	351.56± 27.28 <sup>b*</sup>	547.64± 3.61 <sup>b</sup>	514.88± 32.25 <sup>b</sup>	480.81± 49.88 <sup>c</sup>	995.47± 82.02 <sup>c</sup>	162.17± 2.83 <sup>a*</sup>	95.58± 5.38 <sup>a</sup>	257.41± 12.71 <sup>a</sup>	156.34± 14.90 <sup>a</sup>	179.16± .37 <sup>a*</sup>	335.64± 10.46 <sup>a</sup>
6	269.06± 18.21 <sup>a</sup>	293.12± 18.53 <sup>c</sup>	562.43± 36.66 <sup>b</sup>	237.46± 17.74 <sup>a</sup>	234.49± 4.19 <sup>b</sup>	471.36± 21.98 <sup>ab</sup>	220.15± 4.20 <sup>a*</sup>	161.37± 0.48 <sup>a</sup>	381.09± 3.79 <sup>a</sup>	228.58± 33.70 <sup>a</sup>	478.92± .43 <sup>d*</sup>	707.27± 36.25 <sup>c</sup>
<b>Prom edio</b>	255.68± 31.63 <sup>a</sup>	272.09± 54.61 <sup>a</sup>	528.01± 36.33 <sup>a</sup>	330.19± 19.35 <sup>b</sup>	394.08± 19.12 <sup>b*</sup>	724.21± 72.06 <sup>b</sup>	265.13± 19.99	307.07± 18.16 <sup>a*</sup>	572.31± 32.97 <sup>a</sup>	254.17± 35.00 <sup>a</sup>	418.52± 2.65 <sup>b*</sup>	624.35± 23.02 <sup>b</sup>

Los valores representan el promedio ± EE de consumo en Kilocalorías de alimento estándar (AE color azul), alimento alto en grasa (AAG, color amarillo) y el consumo semanal total. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre los grupos al comparar el mismo tipo de alimento (ANOVA de una vía *Post Hoc* Tukey,  $p < 0.05$ ). El asterisco (\*) representa las diferencias de consumo entre AE y AAG dentro de cada grupo ( $p < 0.05$ ) se analizó con una prueba *t* de Student

Con respecto a las hembras, aquellas pertenecientes al grupo control mostraron al inicio del tratamiento el peso corporal significativamente más bajo en comparación con las hembras de todos demás los grupos (ANOVA,  $p < 0.05$  en todos los casos). Al final de la prueba de alimento, el peso corporal del grupo Ctl fue significativamente menor al alcanzado por los animales del grupo Stev y AceK (ANOVA,  $p < 0.05$ ), siendo este último grupo quien alcanzó el mayor peso. Con excepción del peso al inicio del tratamiento, el peso corporal del grupo Sucr, a lo largo de la PA siempre fue estadísticamente igual al del grupo control; casi de manera similar, el peso corporal de los animales del grupo Stev únicamente difirió respecto al Ctl en el inicio y en el final de la PA. Respecto al Ctl, el peso corporal de las hembras del grupo AceK fue significativamente mayor en casi todas las semanas de la PA, con excepción de las semanas 2 y 3 (Tabla 6).

**Tabla 6. Peso corporal semanal durante la prueba alimento de machos y hembras expuestos vía materna a endulzantes no calóricos**

<b>Machos</b>				
<b>Semanas</b>	<b>Control</b>	<b>Sucralosa</b>	<b>Stevia</b>	<b>Acesulfame K</b>
0	48.50±2.38 <sup>a</sup>	47.00±3.13 <sup>a</sup>	75.33±0.42 <sup>b</sup>	79.83±1.19 <sup>b</sup>
1	75.33±0.88 <sup>a</sup>	79.00±3.13 <sup>a</sup>	120.83±0.94 <sup>c</sup>	110.50±1.83 <sup>b</sup>
2	106.33±3.17 <sup>a</sup>	110.50±4.89 <sup>a</sup>	161.83±1.81 <sup>b</sup>	150.16±2.15 <sup>b</sup>
3	140.00±4.72 <sup>a</sup>	152.50±6.95 <sup>a</sup>	200.00±1.84 <sup>b</sup>	186.66±6.39 <sup>b</sup>
4	184.33±6.64 <sup>a</sup>	192.83±8.57 <sup>a</sup>	229.66±10.18 <sup>b</sup>	236.83±3.92 <sup>b</sup>
5	219.00±7.57 <sup>a</sup>	229.00±11.32 <sup>ab</sup>	269.33±5.01 <sup>c</sup>	259.66±4.92 <sup>bc</sup>
6	248.33±8.56 <sup>a</sup>	253.83±14.52 <sup>ab</sup>	290.66±5.68 <sup>bc</sup>	302.33±5.46 <sup>c</sup>
<b>Hembras</b>				
<b>Semanas</b>	<b>Control</b>	<b>Sucralosa</b>	<b>Stevia</b>	<b>Acesulfame K</b>
0	49.04±1.88 <sup>a</sup>	54.40±2.73 <sup>b</sup>	59.33±3.74 <sup>b</sup>	63.50±2.24 <sup>b</sup>
1	79.33±1.38 <sup>ab</sup>	74.40±2.73 <sup>a</sup>	92.00±4.00 <sup>bc</sup>	92.83±3.91 <sup>c</sup>
2	104.83±1.86 <sup>ab</sup>	94.40±4.78 <sup>a</sup>	116.00±4.19 <sup>b</sup>	118.83±5.51 <sup>b</sup>
3	127.00±2.03 <sup>a</sup>	126.20±3.67 <sup>a</sup>	134.66±5.18 <sup>a</sup>	142.16±5.87 <sup>a</sup>
4	145.00±2.36 <sup>a</sup>	144.60±4.17 <sup>a</sup>	155.16±4.32 <sup>ab</sup>	163.83±5.72 <sup>b</sup>
5	157.50±3.37 <sup>a</sup>	164.00±4.96 <sup>ab</sup>	165.50±4.55 <sup>ab</sup>	181.83±6.28 <sup>b</sup>
6	163.33±3.81 <sup>a</sup>	175.20±4.52 <sup>ab</sup>	185.00±5.36 <sup>bc</sup>	204.66±6.29 <sup>c</sup>

Los valores representan el promedio de los pesos corporales en gramos ± EE. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre los grupos (ANOVA de una vía *Post Hoc* Tukey;  $p < 0.05$ ). ENC; endulzantes no calóricos.

#### 9.4 Tejido adiposo e indicadores bioquímicos en macho y hembras al final de la prueba de alimento

En la tabla 7 se muestran los porcentajes de la relación peso de tejido graso/peso corporal, de los machos y las hembras pertenecientes a los distintos grupos experimentales, al final de la prueba de alimento. En los machos se observan diferencias significativas entre los grupos solo en el tejido retroperitoneal, siendo el grupo Ctl el que mostró significativamente menor porcentaje con  $0.87\pm 0.10\%$  en comparación con los grupos expuestos a bebidas endulzadas no calóricas, donde el grupo Stev fue el que alcanzó el de mayor porcentaje con  $2.16\pm 0.23\%$ . También se encontraron diferencias significativas en el tejido adiposo total donde el mayor porcentaje fue alcanzado por los machos del grupo de Stev con  $5.44\pm 0.38$  en comparación con el tejido graso total del resto de los grupos. En los machos no se encontraron diferencias significativas entre los grupos en los porcentajes de grasa de los tejidos peritoneal y gonadal. En las hembras, el porcentaje de tejido graso mesentérico no mostró diferencias significativas entre los grupos.

**Tabla 7. Peso relativo de tejido adiposo de machos y hembras expuestos vía materna a endulzantes no calóricos, al final de la prueba de alimento**

<b>Machos</b>				
<b>Peso relativo del Tejido adiposo (%) del peso corporal</b>				
Grupo	Gonadal	Mesentérico	Retroperitoneal	Total
Control	$1.19\pm 0.25^a$	$1.30\pm 0.10^a$	$0.87\pm 0.10^a$	$4.38\pm 0.38^a$
Sucralosa	$1.01\pm 0.10^a$	$1.15\pm 0.08^a$	$1.01\pm 0.12^b$	$4.05\pm 0.31^a$
Stevia	$1.84\pm 0.12^a$	$1.43\pm 0.10^a$	$2.16\pm 0.23^c$	$5.44\pm 0.38^b$
Acesulfame K	$1.54\pm 0.09^a$	$1.27\pm 0.08^a$	$1.65\pm 0.13^b$	$4.48\pm 0.20^a$
<b>Hembras</b>				
<b>Peso relativo del Tejido adiposo (%) del peso corporal</b>				
Grupo	Gonadal	Mesentérico	Retroperitoneal	Total
Control	$0.66\pm 0.09^a$	$0.98\pm 0.05^a$	$0.48\pm 0.04^a$	$2.95\pm 0.21^a$
Sucralosa	$1.20\pm 0.17^b$	$1.23\pm 0.01^a$	$0.72\pm 0.06^a$	$4.56\pm 0.32^c$
Stevia	$0.97\pm 0.19^{ab}$	$1.00\pm 0.05^a$	$0.82\pm 0.08^a$	$2.81\pm 0.26^a$
Acesulfame K	$1.20\pm 0.13^b$	$1.30\pm 0.05^a$	$1.45\pm 0.14^b$	$3.97\pm 0.30^b$

Los valores representan el promedio del porcentaje de tejido, respecto al peso corporal  $\pm$  EE de cada tipo de tejido adiposo y peso relativo (%) de tejido adiposo total. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre los grupos (ANOVA de una vía *Post Hoc* Tukey,  $p < 0.05$ )

En cambio, se presentaron diferencias estadísticas en el tejido gonadal siendo el grupo Ctl el de menor porcentaje con  $0.66 \pm 0.09$  en comparación con Sucr y AceK con  $1.20 \pm 0.17$  y  $1.20 \pm 0.13$  % respectivamente. En el tejido retroperitoneal se observa que el de mayor porcentaje fue ganado por las hembras del grupo AceK con  $1.45 \pm 0.14$  en comparación con los otros grupos expuestos y el Ctl que se mantuvieron en un porcentaje menor a 1. En el tejido graso total se encontró que los grupos Ctl y Stev no difieren estadísticamente en su porcentaje de tejido graso total con  $2.95 \pm 0.21$  y  $2.81 \pm 0.26$  %, respectivamente; los porcentajes de tejido graso total de los grupos Sucr y AceK fueron significativamente más altos que estos dos primeros con  $4.56 \pm 0.32$  y  $3.97 \pm 0.30$ , respectivamente.

Los resultados de las determinaciones metabólicas realizadas (Glucosa, Col-Total y Triacilglicéridos) al final de la prueba de alimento son mostradas para machos y hembras en la tabla 8.

**Tabla 8. Indicadores bioquímicos de machos y hembras expuestos vía materna a endulzantes no calóricos, al final de la prueba de alimento**

<b>Machos</b>				
<b>Indicador (mg/dL)</b>	<b>Control</b>	<b>Sucralosa</b>	<b>Stevia</b>	<b>Acelsufame k</b>
Glucosa	$133.53 \pm 18.15^a$	$99.68 \pm 6.02^a$	$99.48 \pm 8.00^a$	$98.76 \pm 10.56^a$
TAG	$216.00 \pm 33.00^a$	$224.50 \pm 8.50^a$	$253.25 \pm 17.11^a$	$255.00 \pm 22.00^a$
Col-Total	$97.00 \pm 14.00^a$	$96.00 \pm 2.94^a$	$84.20 \pm 5.24^a$	$104.60 \pm 12.66^a$
<b>Hembras</b>				
Glucosa	$113.90 \pm 9.94^a$	$126.07 \pm 7.30^a$	$133.81 \pm 9.39^a$	$100.50 \pm 8.95^a$
TAG	$236.70 \pm 21.88^a$	$224.50 \pm 14.33^a$	$199.40 \pm 09.13^a$	$207.67 \pm 10.39^a$
Col-Total	$106.25 \pm 9.80^a$	$87.00 \pm 4.65^a$	$79.00 \pm 12.11^a$	$97.50 \pm 16.45^a$

Los valores representan el promedio de las concentraciones en mg/dl de los indicadores bioquímicos  $\pm$  EE. Las letras diferentes indican diferencias significativas en entre los grupos en cada indicador (ANOVA de una vía *Post Hoc* Tukey,  $p < 0.05$ ). TAG; triacilglicéridos, Col-Total; colesterol total.

Como puede observarse, el análisis estadístico realizado reveló que, en las tres determinaciones metabólicas realizadas, los valores séricos promedio no fueron estadísticamente significativas entre el grupo Ctl y los grupos expuestos a endulzantes no calóricos tanto en machos como en hembras (ANOVA,  $p > 0.05$  en todos los casos). Los valores séricos de glucosa para los machos se encuentran por debajo de los 100 mg/dL en todos los grupos mientras que, para las hembras, los

valores superan los 100 mg/dL donde el valor más alto se observó en el grupo Stev. En el caso de los TAG, en los machos los valores oscilan entre 216 y 255 mg/dL los cuales corresponden a los promedios del grupo Ctl y AceK; en las hembras entre 199.40 y 236.70 mg/dL los cuales corresponden a los valores promedio del grupo Stev y Ctl, respectivamente. Las concentraciones séricas de Col-Total oscilaron para los machos entre 84.20 y 104.60 mg/dL y entre 79.00 y 106.25 mg/dL para las hembras las cuales corresponden a los Stev, AceK y Stv y Ctl respectivamente.

## **10. Discusión**

### **10.1 Peso corporal e indicadores bioquímicos de la descendencia de ratas Wistar expuestas vía materna a endulzantes no calóricos siete días después del destete.**

En la primera parte de este trabajo se evaluó el peso corporal e indicadores metabólicos SDDD, en las crías de ratas Wistar expuestas a bebidas endulzadas no calóricas durante la gestación y lactancia.

Respecto al peso corporal, a los SDDD se observó que las crías expuestas vía materna a Stev y AceK tuvieron un peso corporal significativamente más alto en relación con las crías de las madres Ctl y Sucr (tabla 2). En contraste con nuestros resultados, en un estudio realizado en ratones expuestos prenatalmente a AceK no se encontraron diferencias significativas en el peso de las crías al destete, en comparación con el grupo Ctl (Zhang et al., 2011), estas diferencias podrían deberse al modelo animal y a las dosis de AceK empleados en el estudio mencionado.

Respecto a los resultados encontrados en la descendencia de las madres que consumieron Sucr y Stev, no existen datos o estudios donde se haya explorado el efecto en el peso corporal en las crías expuestas prenatalmente a estos dos ENC. No obstante, un estudio de cohorte realizado en Canadá entre 2009-2012 reporta una asociación positiva entre el consumo de bebidas con ENC durante el embarazo y un aumento en el IMC de infantes de un año: comparado con los hijos de las madres que no consumían este tipo de bebidas, a los hijos de las madres que las consumían diariamente les fue asociado un riesgo 2 veces mayor a padecer sobrepeso durante el primer año de vida (Azhad et al., 2016).

Por otra parte, un estudio en roedores demostró la presencia de ENC en líquido amniótico y leche materna (Bian et al., 2017), por lo que es muy probable que la descendencia de las ratas de nuestro estudio haya estado expuesta a éstos durante la gestación y lactancia y que esta exposición explique el mayor peso corporal registrado para los grupos experimentales respecto al Ctl.

Respecto a los indicadores bioquímicos, siete días después del destete, nuestros resultados indican que los valores séricos de glucosa, triacilglicéridos y colesterol total en los grupos experimentales no difieren significativamente respecto al control. Sin embargo, diversos estudios han examinado los efectos de los endulzantes no calóricos sobre trastornos metabólicos y su relación con enfermedades crónico-degenerativas. En una revisión, Imamura et al., (2016), encontraron que el consumo habitual de bebidas con ENC se asocia a una mayor incidencia de diabetes tipo 2, mientras que Swithers (2013) indicó que el consumo diario de ENC está asociado con un riesgo significativamente mayor a enfermedades cardiovasculares (dado por el riesgo aterogénico). Además, en un estudio en ratones se encontró que el consumo crónico de sucralosa promueve hipercolesterolemia, ya que potencializa la absorción de colesterol lo que lleva a su acumulación significativa en el hígado (Uebanso et al., 2017). En este estudio, los indicadores metabólicos mencionados se midieron siete días después del destete y probablemente por no tratarse de un consumo directo y prolongado, nuestros resultados en los grupos expuestos a ENC no difirieron significativamente del control, sin embargo, es importante considerar las alteraciones metabólicas reportadas para ciertos ENC en un consumo crónico.

## **10.2 Ingesta calórica y ganancia de peso corporal en la descendencia de rata Wistar expuestas a endulzantes no calóricos durante la prueba de alimento.**

En la segunda parte de este trabajo mediante una prueba de alimento se evaluaron durante seis semanas el consumo calórico (proveniente de la ingesta de AE y AAG) y la ganancia de peso corporal, en la descendencia de ratas Wistar, expuestas a bebidas con ENC durante la gestación y lactancia.

En este estudio, en lo que respecta a la descendencia expuesta durante la gestación y lactancia a acesulfame K, tanto en machos como en hembras, se pudo observar

la misma tendencia a un mayor consumo calórico de AAG en comparación con el consumo de AE (tabla 4). Existe evidencia que señala que el consumo de acesulfame K durante la gestación y la lactancia es capaz de modificar anatómicamente al sistema gustativo. Lo anterior fue demostrado en el estudio realizado en ratones por Zhang et al., 2011, donde observaron que la infusión intraoral de una solución de acesulfame K a hembras gestantes y a crías en la etapa postnatal temprana (desde el día 4 hasta el destete) alteró la anatomía del sistema gustativo en el embrión mientras que en el neonato promovió la maduración y aumentó el tamaño de la papila fungiforme; estos cambios persistieron incluso hasta la edad adulta (a las 9 semanas de edad). Los autores de este estudio sugirieron que la exposición dietética de la madre al acesulfame K cambió el entorno sensorial en el que vivían los ratones fetales en el saco amniótico alterando la anatomía de su sistema gustativo. Aunque en este estudio no se analizaron las papilas gustativas ni las concentraciones de acesulfame k en el líquido amniótico y la leche materna, es probable que este compuesto estuviera presente en estos fluidos biológicos (lo cual fue demostrado por Bian et al., 2017), provocando cambios en la anatomía gustativa y, como consecuencia, alterando el sentido del gusto de las crías, mostrando cierta preferencia por el alimento alto en grasa. Otra probable explicación es que el acesulfame K, al no poseer capacidad de saciedad pudo haber modificado centros cerebrales encargados del balance energético, (Durán et al., 2013) lo que posiblemente se tradujo en una mayor necesidad de calorías.

En este estudio las hembras, cuyas madres consumieron sucralosa durante la gestación y lactancia, tuvieron un mayor consumo de alimento alto en grasa, respecto a las crías control, cuestión que no fue observada en machos. Con base en la evidencia experimental expuesta anteriormente, es posible que la exposición prenatal y postnatal a sucralosa haya afectado en las crías áreas cerebrales hipotalámicas que regulan el balance energético provocando un consumo significativamente mayor de alimento alto en grasa, siendo las hembras más vulnerables a dicha afección.

Por otra parte, en este estudio se observó que los machos expuestos a stevia tuvieron un consumo de calorías totales significativamente mayor en comparación

con el grupo control, cuestión que no fue observada en hembras quienes tuvieron el mismo consumo calórico que el grupo control (tabla 3 y 4). Aunque hay pocos trabajos que relacionan el consumo de stevia con la ingesta calórica, el estudio de Bissonnette, List, Knoblich y Hadley, (2017) reportó que ratas sometidas a una dieta líquida, que contenía stevia, no presentaron diferencias significativas en el consumo calórico diario cuando se les comparó con el grupo control (dieta líquida sin ENC). De manera semejante, el estudio de Tey, Salleh, Henry y Forge (2017) realizado en humanos, reportó en voluntarios del sexo masculino, al que se les proporcionó una bebida endulzada con stevia, que no existen diferencias significativas en el consumo de Kilocorías al día, en comparación con el grupo que ingirió solo agua como bebida. Aunque estos estudios no analizaron este consumo después de una ingesta crónica de stevia, los autores de ambos trabajos concluyen que el consumo de stevia no aumenta la ingesta calórica total, no obstante, los resultados de este trabajo sugieren que la exposición durante la gestación y lactancia a este ENC puede condicionar la necesidad de una mayor ingesta calórica de energía diaria, siendo más vulnerables los machos que las hembras.

Al evaluar el peso corporal, tanto en machos como en hembras se puede observar que, a lo largo de las seis semanas de duración de la PA, el grupo control y sucralosa siempre mostraron pesos significativamente menores comparados con los grupos stevia y acesulfame K (tabla 5). Como ya se ha mencionado, no existen estudios suficientes que exploren en las crías el efecto del consumo materno de stevia ni sucralosa, no obstante, nuestros hallazgos coinciden con otros reportes realizados en roedores que muestran que el consumo materno de ENC tales como acesulfame K y aspartame condiciona en la descendencia a una mayor ganancia de peso corporal que conduce a la obesidad (además de otras alteraciones conductuales y metabólicas, como la preferencia elevada hacia los sabores dulces, el aumento de la concentración de lípidos en sangre y la resistencia a insulina, Collinson et al., 2012; Von et al., 2015; Zhang et al., 2011). Estas investigaciones concuerdan con los resultados de este estudio, ya que las ratas expuestas a ENC (en este caso stevia y acesulfame K) durante la gestación y la lactancia mostraron un mayor peso tanto al inicio como al final del tratamiento, en comparación con las

ratas control. Es importante realizar más investigaciones para comprender completamente los mecanismos que guían estos efectos sobre el papel que juegan los ENC aquí estudiados en la regulación energética y la ganancia de peso corporal.

### **10.3 Acumulación del tejido adiposo y los indicadores bioquímicos (glucosa, triacilglicéridos y colesterol) al final de la prueba de alimento.**

Finalmente, este estudio evaluó el efecto de la prueba de alimento en la acumulación de tejido adiposo y en la concentración sérica de glucosa, colesterol y TAG. No existen reportes que relacionen el aumento de tejido adiposo (gonadal, mesentérico y retroperitoneal) después del libre acceso a un AAG en descendientes de madres expuestas a sucralosa, acesulfame K o stevia durante la gestación y la lactancia. Un estudio realizado en ratones *Balb/c* sometidos durante 6 semanas al consumo de bebidas endulzadas con sacarosa, aspartamo, sucralosa o stevia reportó un peso corporal significativamente mayor de todos los grupos experimentales, en comparación con el grupo que solo consumió agua, además indicó que únicamente el grupo que consumió sucralosa mostró un aumento significativo de tejido adiposo mesentérico, inguinal y gonadal y (Pliego-Rivero, Sosa-García, Bernardo y Oros-Pantoja, 2017). Los datos de la presente investigación sugieren que, en machos, mas no en hembras, la exposición pre y posnatal a stevia, puede tener un efecto sobre la acumulación de tejido adiposo. Asimismo, esta investigación reporta una mayor acumulación de tejido adiposo en hembras expuestas pre y posnatalmente a sucralosa y acesulfame, hallazgos que se relacionan con los reportados por Pliego-Rivero et al., 2017 en cuanto a la posible relación que tiene el consumo de sucralosa y la ganancia de tejido adiposo. Nuestros resultados sugieren que en la descendencia de ratas Wistar, la exposición a sucralosa o acesulfame K durante la gestación y la lactancia pudiera favorecer una mayor acumulación de tejido adiposo, cuando esta es expuestas a un ambiente que promueve la obesidad, siendo más vulnerables las hembras a esta ganancia de grasa corporal, ya que en ellas se encontraron más diferencias en distintos compartimentos corporales.

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que en las crías de rata Wistar, la exposición prenatal y posnatal a ENC no tienen un efecto negativo en los indicadores metabólicos aquí estudiados, debido a que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones séricas de glucosa, TAG y Col-T. No obstante, existe evidencia que atribuye efectos diversos sobre la glicemia y la insulina según el ENC ensayado. Por ejemplo, en un estudio en ratas Wistar, Liang et al. (1987), informó que la administración intravenosa de acesulfame K en una dosis de 150 mg/Kg puede inducir la secreción de insulina *in vivo* en una forma similar a la observada tras la administración intravenosa de la misma dosis de glucosa. Por otra parte, en el estudio de Ferreira et al., (2006), se compararon en ratas macho los efectos de las hojas de *Stevia rebaudiana* y esteviósidos sobre la glucemia y la gluconeogénesis hepática, el experimento determinó que una dosis de 5.5 mg/Kg de peso (por 15 días) no produce efecto alguno, sin embargo, si se aumenta la dosis a 20 mg/Kg la concentración de glucosa plasmática disminuye. Adicionalmente, en un ensayo clínico realizado por Romo-Romo et al., (2016), se observó que después de 14 días, el consumo de sucralosa disminuyó la resistencia a la insulina en individuos aparentemente sanos que habitualmente no consumen ENC.

Como puede observarse el efecto del consumo de ENC sobre indicadores metabólicos, necesita ser estudiado de manera más extensa para contar con evidencia suficiente para promover o limitar su uso en la población.

## **11. Conclusión**

1. La exposición durante la gestación y la lactancia a bebidas con ENC fue responsable de un mayor peso corporal en las crías, registrado en los grupos expuestos a stevia o acesulfame K, siete días después del destete.
2. La exposición durante la gestación y la lactancia a bebidas con ENC no tuvo efectos sobre los indicadores bioquímicos analizados en los descendientes expuestos, debido a que no se encontraron diferencias significativas en glucosa, triacilglicéridos y colesterol total.

3. La exposición de endulzantes no calóricos durante la gestación y lactancia se relacionó con una mayor preferencia de alimento alto en grasa ya que los machos de los grupo expuestos a stevia y acesulfame K mostraron durante la prueba de alimento un mayor consumo calórico diario de AAG, en el caso de las hembras los grupos expuestos a sucralosa y acesulfame K también presentaron una mayor ingesta diaria del mismo alimento.
4. La exposición a endulzantes no calóricos vía materna se asoció con una acumulación de tejido adiposo, debido a que todos los machos expuestos presentaron una mayor acumulación de tejido retroperitoneal al final de la prueba de alimento. En el caso de las hembras los grupos expuestos a sucralosa y acesulfame K mostraron una mayor acumulación de tejido gonadal, mientras que solo las hembras del grupo acelsufame K tuvieron también mayor acumulación de tejido retroperitoneal.

Por tanto, los resultados de esta investigación sugieren que el consumo materno durante la gestación y lactancia de ENC tienen influencia en la descendencia, particularmente en el desarrollo de sus preferencias alimentarias, mismas que podrían conducir a una mayor ganancia de peso y grasa corporal, predisponiendo u ocasionando dichas afecciones en las crías en la edad adulta.

## 12. Bibliografía

Abou-Donia, MB. El-Masry, EM. Abdel-Rahman, AA. McLendon, RE. Schiffman, SS. (2008). Splenda alters gut microflora and increases intestinal p-glycoprotein and cytochrome p-450 in male rats. *J Toxicol Environ Health A*. 71(21): 1415-29.

Araújo, J. Martel, F. Keating, E. 2014. Exposure non-nutritive sweeteners during pregnancy and lactation: Impact in programming of metabolic diseases in the progeny later in life. *Reproductive Toxicology*. (49): 196-201.

Azhad, MB. Sharma, AK. De Souza, RJ. Dolinsky, VW. Becker, AB. Mandhane, PJ. Turvey, SE. Subbarao, P. Lefebvre, DL. Sears, MR. (2016). Association Between Artificially Sweetened Beverage Consumption During Pregnancy and Infant Body Mass Index. *JAMA Pediatrics*. 170(7): 662-70.

Basain, V. J. Valdés, A. M. Miyar, P. E. Chirino, G. M. Álvarez, V. M. (2014). Proceso de programación fetal como mecanismo de producción de la obesidad en la vida extrauterina. *MEDISAN*. 18 (10): 1452- 1459

Bayol, S.A., Farrington, S.J., Stickland, N.C. (2007). A maternal “junk food” diet in pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for “junk food” and a greater propensity for obesity in rat offspring. *Br J Nutr*. 98(4): 843–51.

Beauchamp, GK. Mennella, JA. (2009). Early flavor learning and its impact on later feeding behavior. *J Ped Gas Nutr*. (48): 25-30.

Bian, X. Chi, L. Gao, B. Tu, P. Ru, H. Lu, K. (2017). The artificial sweetener acesulfame potassium affects the gut microbiome and body weight gain in CD-1 mice. *Plos one*. 12(6): 1-16.

Bissonnette, DJ. List, S. Knoblich, P. Hadley, M. 2017. The Effect of Nonnutritive Sweeteners Added to a Liquid Diet on Volume and Caloric Intake and Weight Gain in Rats. *Obesity (Silver Spring)*. 25 (9): 1556-1563.

Brahe, LK. Astrup, A. Larsen, LH. (2016). Can we prevent obesity-related metabolic diseases by dietary modulation of the gut microbiota? *Adv Nutr*. 15; 7(1): 90-101.

Casanello. P. Krause, B. J. Castro-Rodríguez, J. Uauy, R. (2015) Programación fetal de enfermedades crónicas: conceptos actuales y epigenética. *Rev Chil Pediatr*. 86(3): 135-137.

Cavagnari, B. (2019). Edulcorantes no calóricos en el embarazo y lactancia. *Rev Esp Salud Pública*. Vol 93. 1-12.

Collinson, KS. Makhoul, NJ. Zaidi, MZ. Saleh, SM. Andres, B. Inglis, A. Al-Rabiah, R. Al-Mohanna, FA. 2012. Gender dimorphism in aspartame-induced impairment of spatial cognition and insulin sensitivity. *PLoS One*; 7(4): 1-30.

Durán A, S. Cordón A, K. Rodríguez N, M. (2013). Edulcorantes no nutritivos, riesgos, apetito y ganancia de peso. *Rev Chil Nut.* 40(3): 309-314.

Durán, S. Salazar, C. Espinoza, J. Fuentealba, F. (2017). ¿Se pueden recomendar en el embarazo los edulcorantes no nutritivos? *Rev Chil Nutr.* 44 (1): 103-109.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino. Dirección: file:///C:/Users/Rojas/Documents/ensanut\_mc\_2016-310oct.pdf Actualización: 31/10/2016 Acceso: 04/09/2017

Ferreira, E.; Rocha, F.; Duarte, M.; Alves, W.; De-Araujo, L.; Bazotte, R. 2006. Comparative effects of Stevia rebaudiana leaves and stevioside on glycaemia and hepatic gluconeogenesis. *Planta Med.* (72): 691–696.

Fragoso M, J. (2015). Edulcorantes: Investigación de los principales usos en la industria alimentaria, así como riesgos a la salud y la importancia de su uso. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

García- Almeida, M. Garcia, M. Casado, F, Garcia, A. (2013). A current and global review of sweeteners Regulatory aspects. *Nutr Hosp.* 28(1): 1-5.

Guerrero V, T. Gala M, F. 2014. Posibles riesgos para la salud debido al consumo de aspartame. *Universidad Tecnológica Equinoccial.* 5(2). 1-13.

Gil-Campos, M., San José G.M., Díaz M., J. (2015). Uso de azúcares y edulcorantes en la alimentación del niño. Recomendaciones del Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatría. *An Pediatr.* 83(5): 1-7.

Gutiérrez R, C. Vásquez-Garibay, E. Romero-Velarde, E. Troyo-Sanromán, R. Cabrera-Pivaral, C. Ramírez M, Olga. (2009). Consumo de refrescos y riesgo de obesidad en adolescentes de Guadalajara, México. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 66(1): 522- 528.

Gómez-Vázquez, HM. (2017). La paradoja de los endulzantes sin calorías. *Med Int Méx.* 33(2): 204-208.

González-Moreno, J. Juárez-López, JS. Rodríguez-Sánchez JL. 2013. Obesidad y embarazo. *Rev Med MD.* (4): 269-275.

Hoffman DJ1, Reynolds RM2, Hardy DB. 2017. Developmental origins of health and disease: current knowledge and potential mechanisms. *Nutr Rev. Dec* 1;75(12): 951-970.

Hill, SE. Prokosch, ML. Morin, A. Rodeheffer, CD. The effect of non-caloric sweeteners on cognition, choice and post-consumption satisfaction. *Appetite*. 83: 82-8.

Imamura, F. O'Connor, L. Ye, Z. Mursu, J. Hayashino, Y. Bhupathiraju, SN. Forouhi, NG. 2016. Consumption of sugar sweetened beverages, artificially sweetened beverages, and fruit juice and incidence of type 2 diabetes: systematic review, meta-analysis, and estimation of population attributable fraction. *Br J Sports Med*. 50(8): 496-504.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Dirección: <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/vitales/mortalidad/tabulados/ConsultaMortalidad.asp> Acceso: 23/11/18

Johnson, M. (2014). Edulcorantes Naturales y Artificiales: ¿Una Bendición o Una Maldición? Versión electrónica. *ULACIT*: 1-16. Recuperado el 13 de enero del 2019 en <http://www.ulacit.ac.cr/files/documentosULACIT/Constant/MadisonInvestigacionEdulcorantes-QuimicaOrganica.pdf>

Johnson, M. 2014. Edulcorantes Naturales y Artificiales: ¿Una Bendición o Una Maldición? *ULACIT*: 1-16.

Kringelbanch, ML. (2005). The human orbitofrontal cortex. Linking reward to hedonic experience. *Nature Reviews*. 6(9): 691-702.

Kwon, E. Kim, Y. (2017). What is fetal programming? a lifetime health is under the control of in utero health. *Obstet Gynecol*: 60(6): 506-519.

Laviada-Molina, H. Almeda-Valdés, P. Arellano-Montaña, S. Gomez-Llanos, A. Cervera-Cetina, M et al. (2017). Posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología sobre los edulcorantes no calóricos. *Rev Mex Endocrinil Metab Nutr*. 4(1):24-41

Liang, Y., Steinbach, G., Maier, V., & Pfeiffer, E. (1987). The Effect of Artificial Sweetener on Insulin Secretion 1. The Effect of Acesulfame K on Insulin Secretion in the Rat (Studies In Vivo). *Hormone and Metabolic Research*, 19(06), 233–238.

Lisbona C, A. Palma M, S. Parra R, P. Gómez C, C. (2013). Obesidad y azúcar; aliados o enemigos. *Nutr. Hosp*. 28(1): 81-87.

Lutsey, PL. Steffen, LM. Stevens, J. (2008). Dietary intake and the development of the metabolic síndrome: The Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation*. 117(6): 754-61

Malo-Serrano, M. Castillo, N. Pajita, D. (2017). La obesidad en el mundo. *An. Fac. med.* 78(2): 1-5

Mercado, P. Vilchis, G. (2013). La obesidad infantil en México. *Revista semestral*. (28): 49-57.

Moreno, M. (2012). Definición y clasificación de la obesidad. *Rev. Med. Clin. Condes*. 23(2): 124-128.

Moreno, V. J. (2016). Los mil primeros días de vida y la prevención de la enfermedad en el adulto. *Nutr Hosp*: 33(4): 8-11.

Nutrición y educación alimentaria. *Edulcorantes*. Recuperado el 25 de octubre de 2018, de: [https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/escuelagro/\\_archivos//000010\\_Alimentos/000000\\_Educacion%20Alimentaria/000000\\_Ficha%20Edulcorantes.pdf](https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/escuelagro/_archivos//000010_Alimentos/000000_Educacion%20Alimentaria/000000_Ficha%20Edulcorantes.pdf)

Olgúin, M., Posadas, M., Revelant, G., Labourdette, V., Marinozzi, D., Venezia, M. y Zingale, M. (2015). Efectos del consumo elevado de fructosa y sacarosa sobre parámetros metabólicos en ratas obesas y diabéticas. *Rev Chil Nutr*. 42(2): 151-156.

Olivier-Van, S. Rother, K. Hanover, J. (2019) Maternal exposure to non-nutritive sweeteners impacts progeny's metabolism and microbiome. *Published*: (10): 1-13.

Organización Mundial de la Salud (2018). Obesidad y sobrepeso. Recuperado el 4 de septiembre de 2017 de Dirección: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/> 2017

Parra, G. V (2012). Desarrollo de endulzantes no calóricos, de alta potencia y funcionales en base a calcio y fibra dietética soluble. Universidad de Chile.

Pliego-Rivero, F. Sosa-García, B. Bernardo, OG. Oros-Pantoja, R. (2017). The Non-Caloric Sweeteners Aspartame, Sucralose and Stevia sp. Induce Specific but Differential Responses to Compartmentalized Adipose Tissue Accumulation. Pp- *Published Online*: 639-46.

Rivera A, J. Muñoz-Hernández, O. Rosas-Peralta, M. Aguilar-Salinas, C. Popkin M, B. Willett C, W. (2008). Consumo de bebidas para una vida saludable: recomendaciones para la población mexicana. *Sal Pub Mex*. 50(1): 173-195.

Rivera, J. (2013). Marco conceptual de la obesidad. En: Elsa Botello, *Obesidad en México* (1ra ed.) (pp, 46-91). México, D. F. Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial.

Rivera, D. J. Velasco, B. A. Carriedo, L. A. (2013). Consumo de refrescos, bebidas azucaradas y el riesgo de obesidad y diabetes. *Instituto nacional de salud pública*:1-4.

Rodríguez-Burelo, M. Avalos-García, M. López-Ramón, C. (2014). Consumo de bebidas de alto contenido calórico en México: un reto para la salud pública. *Sal Tab*. 20(1): 28-33.

Romo-Romo, A. Aguilar-Salinas, CA. Brito-Córdova, GX, Gómez, RA. Vilchis, D. Almeda-Valdes, P. (2016). Effects of the Non-Nutritive Sweeteners on Glucose Metabolism and Appetite Regulating Hormones: Systematic Review of Observational Prospective Studies and Clinical Trials. *PLoS One*. 18: 11(8).

Romero-Velarde, E. Campollo-Rivas, O. Castro-Hernández, J. Cruz-Osorio, R. Vàsquez-Garivay, E. 2006. Habitos de alimentación e ingesta de calorías en un grupo de niños y adolecsentes obesos. *Hosp Inf Mex*. 63 (3): 187-194.

Rother, K. Sylvetsky, C. Schiffman, S. 2015. Non-nutritive sweeteners in breast milk: Perspective on potential implications of recente findings. *Arch Toxicol*. 89(11):2169-2171.

Rudenga, KJ. Small, DM. 2012. Amygdala response to sucrose consumption is inversely related to artificial sweetener use. *Appetite* 58: 504-507.

Salvador-Reyes, R. Sotelo-Herrera, R. Paucar-Menacho, L. (2014). Estudio de la Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud. *Scientia Agropecuaria*. 5: 157-163.

Sánchez-Muniz, F. Gesteiro, E. Espárrago R, M. Rodríguez B, B. Bastida, S. (2013). La alimentación de la madre durante el embarazo condiciona el desarrollo pancreático, el estatus hormonal del feto y la concentración de biomarcadores al nacimiento de diabetes mellitus y síndrome metabólico. *Nutr Hosp*. 28 (2): 250-274.

Sclafani, A. Bahrani, M. Zukerman, S. Ackroff, K. 2010. Stevia and Saccharin Preferences in Rats and Mice. *Chem Senses*. 35: 433-443.

Swithers, SE. Davidson, TL. 2008. A role for sweet taste: calorie predictive relations in energy regulation by rats. *Behav Neurosci*. 122(1): 161-73.

Swithers, SE. 2013. Artificial sweeteners produce the counterintuitive effect of inducing metabolic derangements. *Trends Endocrinol Metab.* 24(9): 431-441.

Sylvetsky, A. Gardner, A. Rother, K. (2015). Nonnutritive sweeteners in breast milk. *J toxicol environ health a.* 78(16): 1029-1032.

Tapia, M. (2013). Determinando las preferencias alimentarias en la edad pediátrica: importancia de la inclusión de frutas y hortalizas. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría.* 76(2): 47-48.

Tey, SL. Salleh, NB. Henry, J. Forde, CG. Effects of aspartame, monk fruit, stevia and sucrose sweetened beverages on postprandial glucose, insulin and energy intake. *Int J Obes,* 41(3): 450-457

Uebanso, T. Ohnishi, A. Kitayama, R. Yoshimoto, A. Nakahashi, M. Shimohata, T. Mawatari, K. Takahashi, A. (2017). Effects of Low-Dose Non- Caloric Sweetener Consumption on Gut Microbiota in Mice. *Nutrients.* 9(6): 2-11.

Malik S, V. Schulze B, M. Hu B, F. 2006. Relación entre el consumo de bebidas azucaradas y el aumento de peso. *Amer Jour of Clin Nutri.* 84: 88-274.

Von, PT. Huffell, AP. Mota, CS. Bertonili, D. Pettenuzzo, LF. Dalmaz, C. 2015. Metabolic and feeding behavior alterations provoked by prenatal exposure to aspartame. *Appetite:* 87: 168-174.

Villanueva, GS. Villegas, SN. Olmedo BB. Virgen, OA. Palacios, FA. Lopez, AF. Del toro, EM. 2017. Análisis comparativo del consumo crónico de agua endulzada con sacarosa o stevia con respecto al peso corporal, la cantidad de alimentos consumidos y el desarrollo de diabetes y dislipidemias en ratas Wistar. *Temas de ciencias y tecnología.* Vol. 21, numero 62: 30-38

Vucetic, Z. Kimmel, J. Totoki, K. Hollenbeck, E. Reyes, TM. (2010). Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression of dopamine and opioid-related genes. *Endocrinology.* 151 (10): 56-64.

Williams, E. P., Mesidor., Winters, K., Dubbert, P. M., & Wyatt, S. B. (2015). Overweight and Obesity: Prevalence, Consequences, and Causes of a Growing Public Health Problem. *Current Obesity Reports,* 4(3), 363-370.

WORLD HEALTH ORGANIZATION.

Dirección: [http://www.who.int/dietphysicalactivity/media/en/gsf\\_s\\_obesity.pdf](http://www.who.int/dietphysicalactivity/media/en/gsf_s_obesity.pdf)  
actualización: 2003 acceso: 2018

Yang, Q. (2010). Gain weight by “going diet? Artificial sweeteners and the neurobiology of sugar cravings: Neuroscience. *Yale J Biol Med.* 83 (2): 101-108.

Yunes Z, J. Barrios R, A. Ávila R, R. Duarte O, A. (2011). Efecto sobre el estado nutricional de la madre sobre el neonato. *Ped Mex.* 13(3): 103-108.

Zhang, X. Wang, Y. Long, Y. Wang, L. Li, Y. Gao, F. Tian, H. (2013). Alteration of sweet taste in high-fat diet induced obese rats after 4 weeks treatment with exenatide. Elsevier. Vol. 47: 115-123.

Zhang, G. Chen, M. Liu, S. Zhan, Y. Quan, Y. Qin, Y. Deng, S. (2011). Effects of Mother's Dietary Exposure to Acesulfame-K in Pregnancy or Lactation on the Adult Offspring's Sweet Preference. *Chem Senses.* 36: 763-770.

Zhu, Y. Olsen F. S. Mendola, P. Halldorsson I, T. Rawal, S. Hinkle N, S. Yeung H, E. Chavarro E, J. Grunnet G, L. Granstrom, C. Bjerregaard A, A. Hu B, F. Zhang, C. (2017). Maternal consumption of artificially sweetened beverages during pregnancy, and offspring growth through 7 years of age: a prospective cohort study. *Inte Jour of Epid.* 0(0): 1-10.

### 13. Anexos

Anexo 1. Formula del alimento estándar para roedor (AE; a partir de la dieta AIN-93M y AIN-93G) y de la dieta alta en grasa (AAG).

	<b>AIN-93M</b>	<b>AIN-93G</b>		<b>AAG</b>	
	<b>Ingredientes para 100 g</b>				
<b>Alimento 5008</b>	60.0	Alimento 5008	50.0	Alimento 5008	50.5
<b>Almidón de maíz</b>	18.6	Almidón de maíz	22.3	Almidón de maíz	13.3
<b>Dextrina</b>	7.5	Dextrina	6.6	Dextrina	5.0
<b>Maltodextrina</b>	7.5	Maltodextrina	6.6	Maltodextrina	5.0
<b>Sacarosa</b>	5.0	Caseína	8.5	Caseína	2.2
<b>Minerales</b>	1.4	Aceite de soya	7.5	Aceite de soya	36.7
<b>Vitaminas</b>	0.4	Minerales	3.5	Minerales	1.7
		Vitaminas	1.0	Vitaminas	0.5

Anexo 2. Peso corporal de las crías siete días después del destete

<b>Machos</b>	
<b>Grupo</b>	<b>Peso en gramos</b>
<b>Control</b>	48.50 ±2.38 <sup>a</sup>
<b>Sucralosa</b>	47.00 ±3.13 <sup>b</sup>
<b>Stevia</b>	75.33±0.42 <sup>c</sup>
<b>Acelsufame K</b>	79.83±1.19 <sup>c</sup>
<b>Hembras</b>	
<b>Control</b>	49.04±1.88 <sup>a</sup>
<b>Sucralosa</b>	54.40±2.73 <sup>b</sup>
<b>Stevia</b>	59.33±3.74 <sup>b</sup>
<b>Acelsufame K</b>	63.50±2.24 <sup>b</sup>

Anexo 3. Peso aproximado de acuerdo con la edad de una rata Wistar Han®

<b>Peso (g)</b>	<b>Edad aproximada (días)</b>	
	<b>Machos</b>	<b>Hembras</b>
<b>35-49</b>	21-24	21-24
<b>50-74</b>	25-30	25-31
<b>75-99</b>	31-36	32-43
<b>100-124</b>	37-42	44-54
<b>125-149</b>	43-47	55-65
<b>150-174</b>	48-54	66-76
<b>175-199</b>	55-60	77-85
<b>200-224</b>	61-66	86+
<b>225-249</b>	67-73	
<b>250-274</b>	74-79	
<b>275-299</b>	80-85	
<b>300-324</b>	86+	

Anexo 4. Imagen de una rata Wistar Han®



Anexo 5. Indicadores metabólicos siete días después del destete

Indicador (mg/dL)	HEMBRAS			
	Control	Sucralosa	Stevia	Acelsufame K
<b>Glucosa</b>	71.27±1.52 <sup>a</sup>	92.37±16.812 <sup>a</sup>	83.29±4.95 <sup>a</sup>	65.42±2.72 <sup>a</sup>
<b>TAG</b>	207.66±9.52 <sup>a</sup>	213.33±31.43 <sup>a</sup>	192.50±3.94 <sup>a</sup>	177.60±4.29 <sup>a</sup>
<b>Col-Total</b>	180.25±9.17 <sup>c</sup>	144.66±4.78 <sup>a</sup>	149.83±8.71 <sup>ab</sup>	172.60±3.05 <sup>bc</sup>
MACHOS				
<b>Glucosa</b>	89.49±6.68 <sup>a</sup>	98.93±2.99 <sup>a</sup>	86.96±9.42 <sup>a</sup>	95.07±7.78 <sup>a</sup>
<b>TAG</b>	199.40±3.80 <sup>a</sup>	199.33±6.02 <sup>a</sup>	189.83±3.97 <sup>a</sup>	166.25±5.89 <sup>a</sup>
<b>Col-Total</b>	191.28±7.42 <sup>a</sup>	172.83±6.48 <sup>a</sup>	167.33±10.62 <sup>a</sup>	187.25±8.57 <sup>a</sup>