

Efecto sobre los niveles de actividad de la enzima glucoquinasa (*GK* en inglés) evaluados en tejido hepático de la ingesta crónica de edulcorantes en modelos animales, ratas estirpe Wistar

Effect on the activity levels of the enzyme glucokinase (*GK*) evaluated in liver tissue of chronic ingestion of sweeteners in animal models, Wistar lineage rats

José Carlos Soto-Medina*, Samuel Mendoza Pérez

*Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM, Facultad de Química, FQ, Departamento de Ingeniería Química, DIQ, Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, LIQAYQA, Circuito de la Investigación Científica s/n, Ciudad Universitaria, 04510 Ciudad de México, México. Tel. (+52-55) 5622-5300 al 04, Fax (+52-55) 5622-5300, correos-e (*e-mails*): carlos_04-11@hotmail.com*, iamzamu@hotm@il.com

*Autor a quien debe dirigirse la correspondencia / *Author to whom correspondence should be addressed*

Recibido: Enero 15, 2023 / *Received: January 15, 2023*

Aceptado: Febrero 15, 2023 / *Accepted: February 15, 2023*

Resumen

El consumo de edulcorantes nutritivos se ha asociado con daños a la salud de quienes los consumen exageradamente. Derivado de ello, la regulación de alimentos ha sufrido diversos cambios en su normativa, destacando la industria de bebidas no alcohólicas que ha implementado entre sus formulaciones el uso de edulcorantes no nutritivos como una opción hacia el consumo de este tipo de glúcidos. A pesar de que estos edulcorantes y conservadores han sido aprobados por diversas regulaciones siguen generando controversia por reportar efectos cancerígenos a altas dosis, cambios en la microbiota intestinal, incrementos en los niveles de glucosa en sangre o diversas alteraciones metabólicas. Sobre este último tema, en esta investigación se planteó la medición de los niveles de la actividad enzimática de la glucoquinasa, *GK* (primera enzima en actuar en la glucólisis) en el tejido hepático para evaluar el efecto del consumo de edulcorantes. Hubo 8 grupos con 80 ratas (40 hembra y 40 macho) y 2 grupos basales (10 machos y 10 hembras) para contar con un total de 100 ratas de la estirpe Wistar. Al obtener los resultados de la actividad enzimática se compararon con respecto de un grupo control (ratas que bebieron solamente agua potable) y que, de esta manera, fuera posible evaluar el incremento o decremento de esta actividad por el consumo de estos edulcorantes. El estudio abarcó una duración de 160 días¹⁰ y a su término se realizó una eutanasia humanitaria en donde se extrajeron los hígados para la realización de este estudio. Los edulcorantes suministrados en este periodo fueron: Glucosa 14%, fructosa 7%, sacarosa 10%, acesulfame de K 0.05%, mezcla de aspartame:acesulfame de K 1.55%, sacarina 0.033% y sucralosa 0.017%. Entre los resultados destacables se observaron que, para las ratas macho que bebieron sacarina y sucralosa, sí hubieron diferencias significativas con respecto del grupo control reportando incrementos en los niveles de actividad de la *GK*. Para las ratas hembra, a pesar de no contar con una diferencia significativa en cuanto a la actividad de la *GK* entre edulcorantes nutritivos y no nutritivos con respecto del grupo control, sí la hubo entre los edulcorantes no nutritivos (acesulfame de K y sacarina con respecto de la sucralosa). Al aplicarse un análisis multifactorial en donde se relacionó el edulcorante consumido *versus* el sexo hembra o macho, no hubieron diferencias significativas entre el tipo de edulcorante consumido, pero sí con el factor sexo. Lo anterior da a comprender que el género sí es una variable para la actividad de la *GK*.

Palabras clave: Edulcorantes, glucoquinasa *GK*, tejido hepático

Abstract

The consumption of nutritive sweeteners has often been associated with harm to the health of those who consume them. Derived from this, food regulation has undergone various changes in its regulations, highlighting the non-alcoholic beverage industry that has implemented the use of non-nutritive sweeteners among its formulations as an alternative to the consumption

¹⁰ Aunque se planearon cinco meses para la eutanasia debido a disponibilidad del personal realmente fueron 160 días para ella (nota de los autores)

of this type of carbohydrates. Despite the fact that these sweeteners and preservatives have been approved by various regulations, they continue to generate controversy for reporting carcinogenic effects at high doses, changes in the intestinal microbiota, increase in blood glucose levels or various metabolic alterations. Regarding this last topic, in this investigation the measurement of the levels of the enzymatic activity of glucokinase, GK (first enzyme to act in glycolysis) in the liver tissue was carried out to evaluate the effect of the consumption of sweeteners. There were 8 groups of 80 rats (40 female and 40 male) and 2 basal groups (10 males and 10 females) for a total of 100 rats of the Wistar strain. When obtaining the results of the enzymatic activity, they were compared with respect to control groups (rats that drank only drinking water) and, in this way, it was possible to evaluate the increase or decrease of this activity due to the consumption of these sweeteners. The study covered a duration of 160 days¹¹ and at the end of this a humane euthanasia was performed where the livers were extracted for the realization of this study. The sweeteners supplied in this period were: Glucose 14%, fructose 7%, sucrose 10%, acesulfame K 0.05%, mixture of aspartame: acesulfame K 1.55%, saccharin 0.033% and sucralose 0.017%. Among the notable results, it was observed that, for the male rats that drank saccharin and sucralose, there were significant differences with respect to the control group, reporting increases in GK activity levels. For female rats, despite not having a significant difference in terms of GK activity between nutritive and non-nutritive sweeteners with respect to the control group, there was one between non-nutritive sweeteners (acesulfame K and saccharin relative to sucralose). When applying a multifactorial analysis where the sweetener consumed was related to the female or male sex, there were no significant differences between the type of sweetener consumed, but there were in the sex factor. This suggests that gender is indeed a variable for GK activity.

Keywords: Sweeteners, glucokinase GK, liver tissue

INTRODUCCIÓN

Los glúcidos son uno de los macronutrientes preferidos en la dieta no solamente por su importancia en cuanto a la obtención de energía, sino también por la sensación que transmiten al entrar en contacto con los receptores de las células de las papilas gustativas donde, por medio de una serie de reacciones, son estimuladas las neuronas sensoriales (Figura 1).

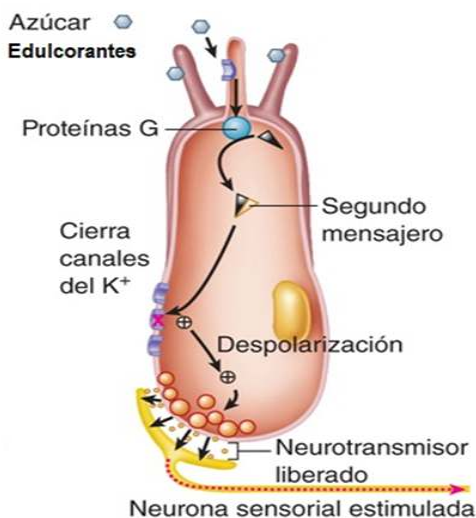


Figura 1. Activación de estímulo dulce por parte de la sacarosa (azúcar) en las células gustativas (Fox, 2017)

Los glúcidos, derivados de la glucosa, aportan 4 kcal/g y se encuentran disponibles en productos tanto de manera natural (frutas y verduras) como adicionada en productos industrializados (bebidas endulzadas, golosinas, cereales para desayuno, bizcochos y dulces, entre otros). Dentro de los glúcidos se encuentran los diglúcidos como la maltosa, la lactosa y la sacarosa, y los monoglúcidos como la galactosa, fructosa y glucosa, responsables de múltiples tareas tales como de biosíntesis, homeostasis, producción y almacenamiento de energía, entre otros.

¹¹ Although five months were planned for euthanasia, due to staff availability, it was actually 160 days for it (note from authors)

Glucólisis

La glucólisis se basa en una serie de reacciones catalizadas enzimáticamente dentro del citosol que extraen energía de la glucosa al romperla en dos moléculas de tres carbonos llamadas piruvato. La glucólisis consiste en diez pasos divididos en dos fases. La "fase preparatoria" donde la glucosa es atrapada dentro de la célula y usa energía para transformarse en gliceraldehído 3-fosfato y la "fase de beneficios" donde se extrae energía a través de la conversión oxidativa del gliceraldehído 3-fosfato en piruvato con formación de *ATP* y *NADH* (Nelson y Cox, 2019).

Enzima glucoquinasa (*GK*)

La glucoquinasa (*GK*) tiene como función catalizar la transferencia del grupo fosforilo del complejo *ATP*-Mg al sexto carbono de la glucosa para formar la glucosa-6-fosfato (*G6P*) durante la "fase preparatoria" de la glucólisis, siendo la primera enzima en actuar ante una variación en los niveles de glucosa en sangre.

Se expresa principalmente en el hígado y páncreas. En las células del hígado, la *GK* regula el nivel en el que se llevará a cabo la glucólisis. En contraste, en las células α y β del páncreas, la concentración de glucosa en sangre es regulada a través de la liberación de glucagón e insulina (Li et al., 2018). La *GK* se caracteriza por tener una baja afinidad por la glucosa y no inhibirse a concentraciones fisiológicas de glucosa 6-fosfato, por lo que la interacción glucosa-*GK* solamente se llevará a cabo cuando las concentraciones de glucosa sean elevadas en sangre.

La *GK* presenta una conformación que cambia en función de la concentración de la glucosa. Para altas concentraciones, la glucosa y el *ATP* se unen al sitio catalítico de la *GK* y pasa de su conformación estándar denominada "cerrada" a otra denominada "abierta" (Figura 3). Cuando la concentración de glucosa es baja, la *GK* presenta una conformación denominada "super abierta", en la cual sufre una reorganización considerable, donde el sitio de unión de la glucosa muestra una disrupción y se une a la proteína reguladora de la glucoquinasa (*GCKR*) (Van Schaftingen, 2020).

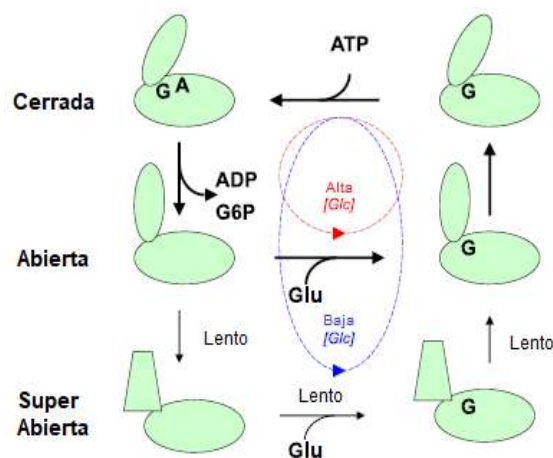


Figura 3. Cambio conformacional de la *GK* en función de la concentración de glucosa (Van Schaftingen, 2020)

La actividad de la *GK* se regula principalmente por la insulina y el glucagón, donde su principal función es la de mantener la concentración de glucosa en sangre en un rango normal, entre 80-105 mg/dL (Olivares-Reyes y Arellano-Plancarte, 2008). La insulina es liberada por la estimulación del páncreas por la hormona péptido insulíntrópico dependiente de la glucosa (*GIP*), sintetizada por las células K

presentes en el duodeno y yeyuno y por el péptido similar al glucagón-1 (*GLP-1*). Esta hormona es producida por las células L endocrinas epiteliales intestinales como respuesta a un incremento en los niveles de glucosa en sangre con el fin de disminuir su concentración a sus niveles normales (Escalada, 2014; Kim y Egan, 2008).

El principal mecanismo de secreción de insulina es a través de su liberación por los niveles elevados de glucosa plasmática. En las células β pancreáticas una vez que ingresa la glucosa a la célula es captada por la *GK* y fosforilada en glucosa-6-fosfato (*G6P*). Posteriormente, la *G6P* pasa por la vía de la glucólisis para ser transformado en piruvato e ingresa a la mitocondria para pasar por el ciclo de Krebs. Esto ocasiona un incremento de los niveles de *ATP/ADP*. El incremento de la relación *ATP/ADP* provoca el cierre del canal de potasio (K^+) sensible a *ATP*, despolarizando la membrana y abriendo el canal de calcio (Ca^{2+}) dependiente del voltaje. El ingreso de calcio provoca, después de una serie de reacciones en cadena, la exocitosis de la insulina (Santamaría-Duque, 2022). En la Figura 4 se ejemplifica todo este proceso.

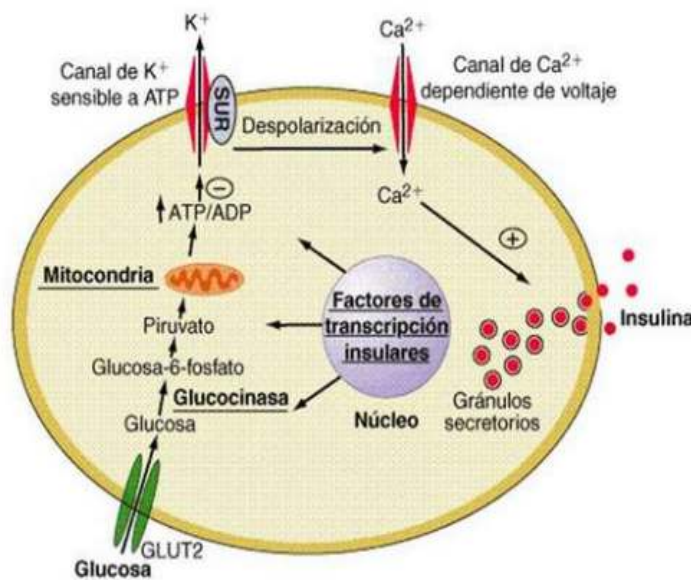


Figura 4. Mecanismo de secreción de la insulina donde *SUR* son los receptores de las sulfonilureas (medicamentos que promueven la producción de insulina, ver Glosario) en el organismo (Contreras et al., 2002; Santamaría-Duque, 2022)

Por el contrario, el glucagón se encarga de incrementar los niveles de glucosa en sangre y es liberado de manera muy similar a la insulina por las células alfa a través de una estimulación en el canal de potasio dependiente de *ATP* (K_{ATP}), el cual sitúa el potencial de membrana celular en un rango que permite la apertura de canales de sodio (Na^+) y de calcio (Ca^{2+}) (Tudurí-López, 2009). El aumento en la concentración intracelular de estos 2 iones despolariza la membrana e incrementan la conductancia al Ca^{2+} (Lima-Martínez et al., 2011). Ambas hormonas regulan la homeostasis de la glucosa a través del incremento y la reducción de su concentración en el plasma sanguíneo. Por ello, a mayor concentración de insulina, la *GK* se encontrará más activa, mientras que, a mayor concentración de glucagón, su actividad será menor (Nirmalan y Nirmalan, 2020; Zazueta, 2007).

Cabe mencionar que otras formas de regulación de la actividad de la *GK* viene dada por la proteína 6-fosfofructo-2-quinasa/fructosa 2,6-bisfosfatasa (*PFK2/FBP2*) y la proteína reguladora de glucoquinasa (*GKRP*) a través de la formación de complejos entre ellas con la *GK* en función de la concentración de glucosa en el plasma (Agius, 2016; Sternisha y Miller, 2019; Van Schaftingen, 2020).

Edulcorantes no nutritivos

Los edulcorantes no nutritivos son moléculas que cuentan con las mismas características que los glúcidos para impartir un sabor dulce, con la diferencia de que, según sus fabricantes, no son absorbidos por el organismo. Desde hace varias décadas se ha intentado reducir el consumo de los glúcidos a través de estos edulcorantes que, como son potenciadores del sabor dulce se encuentran muy por arriba del valor de los glúcidos naturales, aportan un bajo contenido energético y, por ello, son requeridos en bajas cantidades para su adición en alimentos lo que reduce sus precios, aún adicionando un conservador para sustituir al azúcar, el clásico conservador (Bassoli y Merlini, 2003).

En la Tabla A se muestra una comparativa del dulzor relativo de distintos edulcorantes nutritivos y no nutritivos (Healsted, 2019; Tiefenbacher, 2017).

Tabla A. Dulzor relativo de distintos educorantes (Tiefenbacher, 2017)

Edulcorante	Dulzor relativo
Acesulfame de potasio	130-200
Aspartame	120-220
Eritritol	0.5-0.6
Fructosa	0.8-1.7
Glucosa	0.6-0.75
Jarabe de maíz de alta fructosa (42% de fructosa)*	0.83-0.93
(55% de fructosa considerando a 42% = 1*	1.0-1.1
(90% de fructosa considerando a 42% = 1)*	1.2-1.6
Lactosa	0.2-0.4
Maltodextrina	0.1
Sacarina	200-700
Sacarosa	1 (base unitaria)
Sorbitol	0.5-0.6
Sucralosa	400-800
Stevioside	300
Xilitol	0.9-1.0

*Tomados de Helstad, 2019 (comparados con una solución de sacarosa al 15% para el valor de 1)

Según el autor Tiefenbacher (2017): "la única forma de comparar al azúcar con otros edulcorantes es mediante evaluación sensorial, realizada principalmente probando soluciones, ya sea al 10% de sacarosa en agua o a algún otro porcentaje. En la comparación, a la sacarosa se le asigna el valor 1 o 100. La degustación se lleva a cabo en condiciones definidas. Los factores que afectan la impresión de dulzor, además de la concentración, son la temperatura, el pH, la presencia de otros componentes, la sensibilidad del individuo y si el individuo está entrenado o no (Nordic Sugar, 2009, una empresa danesa). A temperaturas más altas, por ejemplo, se reduce considerablemente el efecto dulzor de la fructosa. Los datos relativos al dulzor (Tabla 1) deben considerarse con cuidado. La impresión sensorial en matrices sólidas como, por ejemplo, alimentos de panadería, puede diferir considerablemente de la de una solución de azúcar en agua pura. En la literatura científica se encuentran diferentes valores de dulzor relativo debido a la subjetividad de los métodos sensoriales (Shallenberger, 1993; Taste Chemistry; Springer Science)".

Evidentemente, a pesar del amplio uso que tienen en el mercado de alimentos, los edulcorantes que pretenden y, de hecho, están sustituyendo al azúcar de caña o de remolacha usando a sus consumidores como modelos de laboratorio, todavía son objeto de controversias sobre cuál es la influencia que presentan al interactuar con la microbiota intestinal, el balance de energía, el apetito, la saciedad y la ganancia de masa corporal (Bian et al., 2017; Carraro-Foletto et al, 2016; de-Matos-Feijó

et al., 2013; Martínez et al., 2010; Mendoza-Pérez, 2017; Niu et al., 2012; Palmnäs et al., 2014; Suez et al., 2014; Swithers y Davidson, 2008; Swithers et al., 2009; 2010; 2013).

Por esta razón, el grupo de investigación que inició estos estudios a principios del siglo XXI, ha tenido como objetivo evaluar la inocuidad de estos edulcorantes diferentes del azúcar usando a modelos animales y, en particular, a la rata Wistar (Berrios-Roque, 2021; Campos-Acevedo, 2017; Carrillo-Núñez, 2011; Castro-Reyes, 2022; Espinoza-Pérez y García-Sánchez, 2018; Flores-Serrano, 2022; González-Filomeno, 2007; Guzmán-Gómez, 2013; Martínez et al., 2010; Mendoza-Pérez, 2017, 2021; Negrete-Lira, 2022; Nieto-Bejarano, 2014; Orta-Méndez-y-Sánchez, 2016; Reyes-Díaz y Pérez-Rico, 2010; Reynoso-Amado, 2022; Robles-Sánchez, 2022; Rodríguez-Ramírez, 2022; Rosas-Aguilar, 2022; Sánchez-González, 2021; Soto-González, 2022; Soto-Medina, 2022; Tercero-Reyes, 2021; Vega-Jiménez, 2019).

Para esta fase de la investigación, el objetivo fue evaluar el efecto del consumo de edulcorantes sobre los niveles de la actividad enzimática de la glucoquinasa, *GK* (primera enzima en actuar en la glucólisis) aislada del tejido hepático.

METODOLOGÍA

Modelo animal

Se emplearon 80 muestras de tejido hepático provenientes de una eutanasia humanitaria realizada a los 160 días de experimentación en donde 40 machos y 40 hembras de la estirpe Wistar fueron seleccionados de manera aleatoria de entre una población de 160 ratas. Adicionalmente, se contó con 20 muestras de tejido hepático correspondientes a 10 ratas macho y 10 ratas hembra que se encontraban recién destetadas (denominadas "basales"). Todas las ratas ingirieron la dieta Teklad Global 18S®.

Las soluciones de suministro fueron edulcorantes nutritivos y no nutritivos en agua potable. Los grupos de edulcorantes que se bebieron durante la experimentación fueron: Sacarosa (10%), glucosa (14%), fructosa (7%), sucralosa (0.017%), acesulfame K (0.05%), sacarina (0.033%), mezcla comercial de aspartame con acesulfame (Mezcla) (1.55%) y un grupo control de agua potable sin edulcorante. La concentración de las soluciones fue establecida con base en el porcentaje que presentan las bebidas endulzadas no alcohólicas comerciales y a su ingesta diaria admisible (IDA) (Mendoza-Pérez, 2021).

La eutanasia humanitaria se realizó de acuerdo con las disposiciones de la NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (DOF, 1999).

Diseño experimental

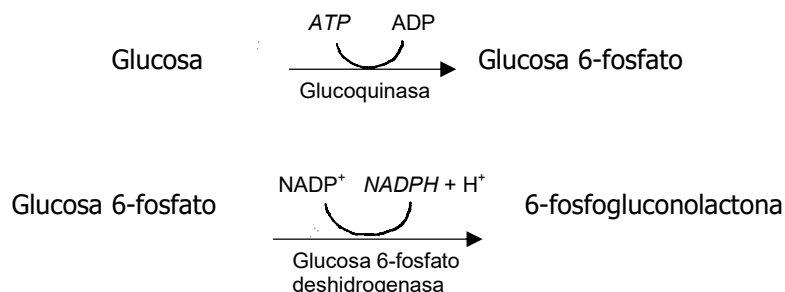
El diseño experimental realizado fue de tipo multifactorial involucrando dos factores de tipo categórico:

- Edulcorante
- Sexo de la rata

El factor "edulcorante" contó con 9 niveles que corresponden a los siete grupos de edulcorantes manejados más el grupo control al cual le fue suministrada agua potable y otro grupo de ratas recién destetadas que se denominó grupo basal. El factor "sexo de la rata" contó con 2 niveles: Macho y hembra. Todos los grupos tuvieron una n=5 por grupo/sexo excepto el grupo basal que contó con una n=10 por grupo/sexo dando un total de 100 ratas (N=100): 50 ratas hembra y 50 ratas macho. La variable de respuesta fue la actividad específica de la glucoquinasa *GK* expresado en mU/mg, donde: U= Actividad enzimática de glucoquinasa.

Determinación de la actividad enzimática de la glucoquinasa (*GK*)

Esta determinación se realiza siguiendo una adaptación de los métodos espectrofotométricos de Goward et al. (1986) y Walker y Parry (1966). Estos se basan en un ensayo enzimático acoplado a la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, la cual transforma la glucosa-6-fosfato (resultado de la fosforilación de la glucosa por la glucoquinasa) a 6-fosfogluconolactona con la subsecuente reducción de $NADP^+$ a $NADPH$. Los cambios en la absorbancia a 340 nm son proporcionales al cambio en la concentración de $NADP^+$; por lo que por cada mol de $NADP^+$ reducida, la glucoquinasa transformará un 1 mol de glucosa a glucosa-6-fosfato como se puede observar en las siguientes reacciones:



La mezcla de reacción contiene 4.8 mL de solución amortiguadora de *Tris* 75 mM a pH=9.0, 0.2 mL de β -D (+) – Glucosa 360 mM, 0.2 mL de *ATP* 120 mM, 0.2 mL de $MgCl_2$ 600 mM y 0.2 mL de $NADP^+$ 27 mM. Se colocan 560 μ L de mezcla de reacción y 20 μ L de una solución enzimática de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (*G-6-F-DH*) (Sigma-Aldrich, MO, EE. UU.), cuya actividad enzimática se debía encontrar a 100 U/mL en una celda de metacrilato para UV-Vis. A la mezcla anterior se le da lectura a 340 nm durante 5 minutos para obtener una línea base. Posteriormente, se añaden en la misma celda 20 μ L de solución *Tris* base 50 mM a pH=8.5 y se mezcla nuevamente por inversión, leyéndose en el espectrofotómetro a 340 nm durante 5 minutos para generar el blanco de reacción. En una nueva celda se colocan 560 μ L de la mezcla de reacción, 20 μ L de G-6-F-DH y 20 μ L de extracto de tejido hepático y se registra la absorbancia a 340 nm en el espectrofotómetro durante 5 minutos. A partir de estas lecturas se obtiene la velocidad inicial en $\Delta abs_{340nm}/min$, tanto para la muestra del extracto hepático, como para el blanco con la parte lineal de la curva de avance de reacción. Los valores de Δabs se utilizan para calcular la actividad enzimática (U) por mililitro de extracto empleando la Ecuación 1:

$$U/mL = [(\Delta abs_{340nm} \text{ muestra} - \Delta abs_{340nm} \text{ blanco}) * (0.6 \text{ mL}) * (fd)] / [(6.22) * (0.02 \text{ mL})] \quad \text{Ecuación 1}$$

donde: **0.6:** Volumen final en celda UV; **fd:** Factor de dilución; **6.22:** Coeficiente de extinción milimolar de $NADP^+$; **0.02:** Volumen de extracto hepático agregado. **U:** cantidad de enzima que cataliza la fosforilación de 1 μ mol de glucosa por minuto a 28°C y pH= 9.0

Una vez obtenidas la actividad enzimática y la concentración de proteínas de los extractos hepáticos, se establece la actividad específica de la *GK* aplicando la **Ecuación 2:**

$$U/mg = (U/mL) / (\text{Conc. proteínas [mg/mL]}) \quad \text{Ecuación 2}$$

Debido a que los niveles de actividad enzimática en los extractos crudos de proteínas sin purificar son generalmente muy bajos, el nivel de actividad enzimática se suele expresar en miliunidades (mU) en lugar de unidades (U). Para ello se realiza la multiplicación por el factor adecuado, por lo que en la presente investigación todos los resultados de actividad específica se encuentran expresados como mU/mg.

Análisis estadísticos

Los datos experimentales obtenidos fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANDEVA), para el cual se verificó que cada grupo cumpliera con los requisitos de:

- Independencia de muestras
- Los datos siguieran distribuciones normales dentro de cada uno de los grupos (normalidad)
- Debe existir una igualdad de varianza (homocedasticidad) entre los datos, evaluada con la prueba de Levene (Walpole et al., 2012)

En la **Figura 5** se muestra el árbol de decisiones que se diseñó para simplificar la forma de trabajo, las condiciones que se requerían en los datos y las pruebas utilizadas.

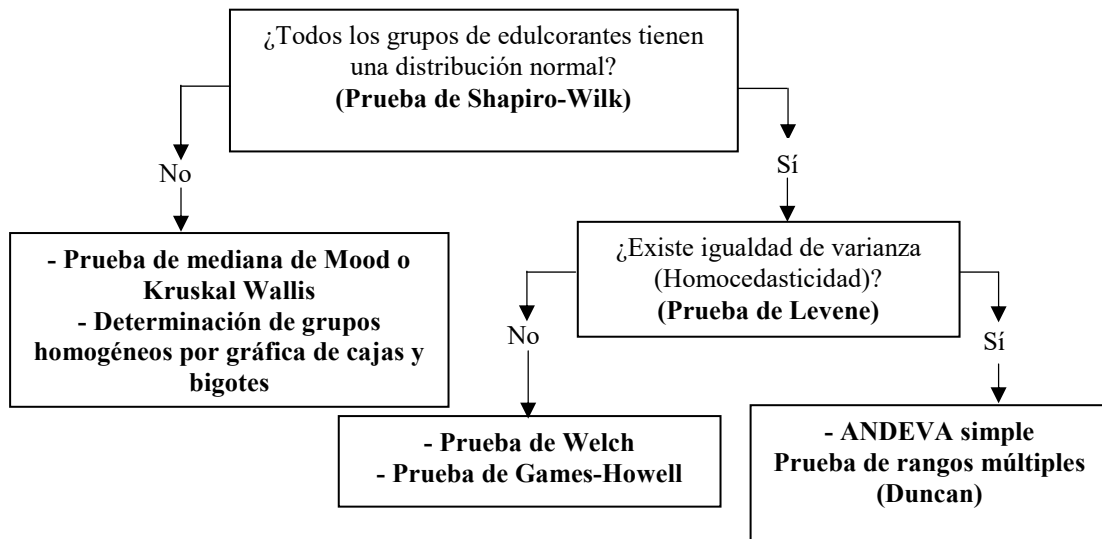


Figura 5. Árbol de decisiones para el manejo de datos estadísticos y pruebas realizadas

Los tratamientos estadísticos que se llevaron a cabo fueron los siguientes:

- Identificación de datos atípicos o aberrantes por estimación de sigma basada en la desviación absoluta de la media (*Z-DAM*), empleando el software *Statgraphics Centurion XVI*.
- Comprobación de normalidad a través de la prueba Shapiro-Wilk, empleando el software *Statgraphics Centurion XVI*.
- Para aquellos datos que no siguieron una distribución normal, fue necesaria la realización de la prueba de las medianas de Mood y de rangos múltiples, las cuales permiten evaluar la hipótesis de que las medianas de todas las muestras son iguales realizando comparaciones sobre cuáles son diferentes entre sí, respectivamente.
- Comprobación de homocedasticidad a través de la prueba de Levene empleando el software *Statgraphics Centurion XVI*.
- Para aquellos datos que no presentaban homocedasticidad, fue necesario sustituir el ANDEVA por la prueba de Welch y como prueba de rangos múltiples la prueba de Games-Howell, empleando el software *Minitab 17*.
- Para los grupos que no cumplieron los requisitos establecidos para el análisis de varianza, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis, la cual evalúa la hipótesis de la igualdad de medianas para todos los grupos. Para esta prueba se empleó el software *Statgraphics Centurion XVI*.
- Análisis de varianza (ANDEVA) multifactorial relacionando grupo y sexo. Para esta prueba se empleó el software *Statgraphics Centurion XVI*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

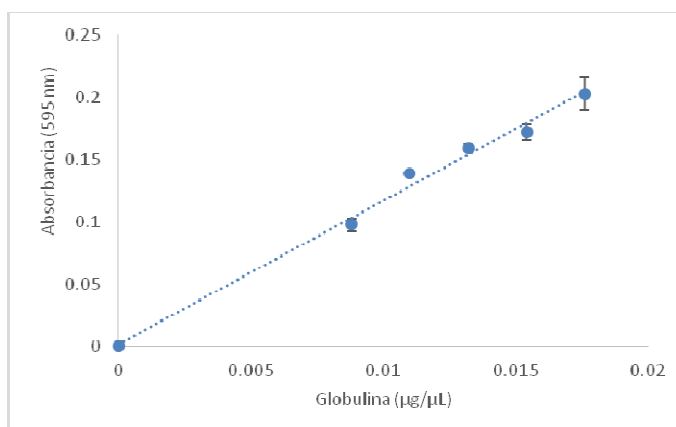
Realización de curva patrón de globulina

A partir de una solución de globulina, se construyó una curva patrón mediante el método espectrofotométrico de Bradford (Kruger, 2009), con la finalidad de poder cuantificar las proteínas en el tejido hepático de las ratas. Los resultados se presentan en la Tabla 1 y en la Gráfica 1. Con los datos obtenidos de la curva patrón se obtuvo la Ecuación 3.

Tabla 1. Datos de la curva patrón de globulina

Tubo	Globulina (µL)	Concentración (µg/µL)	Abs 1 (595 nm)	Abs 2 (595 nm)	Abs 3 (595 nm)	Abs prom (595 nm)	Coef var
Blanco	0	0	0	0	0	0	0
1	200	0.0088	0.103	0.097	0.093	0.097	5.153
2	250	0.011	0.138	0.140	0.140	0.139	0.828
3	300	0.0132	0.159	0.163	0.157	0.160	1.913
4	350	0.0154	0.172	0.179	0.166	0.172	3.775
5	400	0.0176	0.218	0.194	0.198	0.203	6.323

Abs: Absorbancia obtenida a 595 nm; **Coef var:** Coeficiente de variación



Gráfica 1. Curva patrón de globulina para la cuantificación de proteínas en tejido hepático (Linealidad de la curva: $R^2 = 0.9911$)

$$\text{Abs} = 11.553 * (\text{Conc.}) + 0.0016 \quad \text{Ecuación 3}$$

Cuantificación de proteínas en tejido hepático

Con la obtención de los extractos hepáticos, se procedió a cuantificar el contenido de proteínas en cada uno de ellos. La medición de las muestras se realizó igualmente por el método de Bradford. A continuación, se muestra un ejemplo de cálculo de la muestra H70 del grupo de fructosa.

Despejando de la **Ecuación 3** se tiene:

$$\text{Conc. Prom. muestra} = (\text{Abs. Prom. muestra} - 0.0016) / 11.553 \quad \text{Ecuación 4}$$

$$\text{Conc. Prom. H70 Fructosa} = (0.149 - 0.0016) / 11.553 = 0.0127 \mu\text{g}/\mu\text{L}$$

Considerando la dilución que se realizó de 1:10,000 se tiene:

$$\text{Conc. Prom. H70 Fructosa} = (0.0127 \mu\text{g}/1\mu\text{L}) * (10,000\mu\text{L}/1\mu\text{L}) = \mathbf{127.29 \mu\text{g}/\mu\text{L}}$$

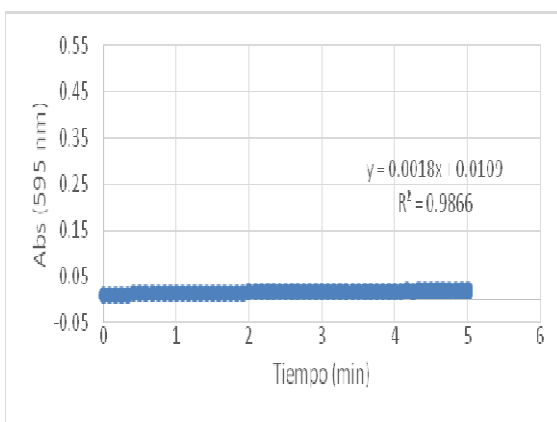
La cuantificación de proteínas es una etapa importante para determinar la actividad específica de la glucoquinasa, ya que si bien la actividad enzimática (U) se define como la cantidad de enzima requerida para transformar 1 μmol de sustrato por minuto (Bisswanger, 2014), la actividad específica es el número de unidades de enzima que se tienen en un miligramo de proteína (U/mg).

Determinación de la actividad enzimática de la glucoquinasa

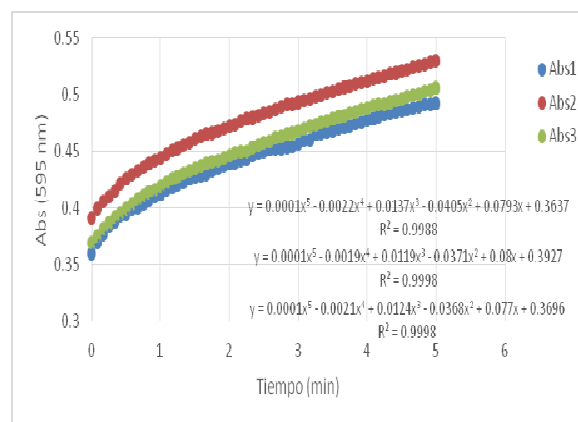
Las Gráficas 2 y 3 muestran un ejemplo de las curvas de avance de reacción para las muestras blanco de tejido hepático y sus triplicados para la muestra H70 del grupo de fructosa. Usando la ecuación de la curva de reacción de la muestra blanco y de extracto hepático, junto con el método de regresión polinómica, se aplicó la primera derivada (dx) para obtener la pendiente de la recta tangente evaluándose al tiempo 0. Lo anterior permitió calcular la velocidad inicial ($\Delta\text{abs}/\text{min}$) (Fasold y Gundlach, 1974). La sustitución de estos valores de absorbancia sobre la Ecuación 1 dio los valores de actividad enzimática (U) para cada muestra y, con la Ecuación 2 y los valores de concentración de proteína se obtuvo la actividad específica (U/mg). Debido a que el valor de actividad enzimática en extractos crudos sin purificar fue bajo, se prefirió expresar el resultado en mU/mg en lugar de U/mg, ya que en el análisis estadístico fue empleada la concentración de mU/mg:

$$\text{U/mL H70 Fructosa} = [(0.0793 - 0.0018) * (0.6 \text{ mL}) * (4)] / [(6.22) * (0.02 \text{ mL})] = \mathbf{1.495 \text{ U/mL}}$$

$$\text{U/mg H70 Fructosa} = (1.495 \text{ U/mL}) / (127.29 \text{ mg/mL}) = 0.0117 \text{ U/mg} = \mathbf{11.7 \text{ mU/mg}}$$



Gráfica 2. Curva de avance de reacción de un blanco de reactivos



Gráfica 3. Curva de avance de reacción de muestra de rata hembra que ingirió Fructosa

Análisis estadístico de la actividad enzimática

En las Tablas 2 y 3 se muestran las medias de la actividad enzimática específica (mU/mg) y la desviación estándar de cada uno de los grupos de edulcorantes para las ratas macho y hembra, respectivamente.

Debido a que los valores de la actividad específica en ratas macho no presentaron un comportamiento normal se recurrió a hacer su análisis a través del uso de las medianas \pm la DAM (Desviación Absoluta de la Mediana) para evaluar la hipótesis de que todas las medianas eran iguales. El resultado de esta prueba reportó diferencia significativa entre los grupos.

Tabla 2. Mediana por grupo de actividad específica (mU/mg) de la glucoquinasa de ratas macho

Grupo	Actividad específica (mU/mg \pm DAM)	Grupos homogéneos*
Control	5.52 \pm 1.35	A
Mezcla	6.84 \pm 0.63	A
Ace K	7.33 \pm 3.37	A B
Glucosa	8.22 \pm 1.53	A B
Basal	7.29 \pm 2.25	A B
Sacarosa	6.68 \pm 2.76	A B
Fructosa	9.24 \pm 3.54	A B C
Sacarina	9.77 \pm 2.02	B
Sucralosa	13.36 \pm 1.07	C

*Los grupos que no comparten letra difieren estadísticamente. Prueba Games-Howell al 95% de confianza

Tabla 3. Media por grupo de actividad específica (mU/mg) de la glucoquinasa de ratas hembra

Grupo	Actividad específica (mU/mg \pm DE)	Grupos homogéneos*
Sucralosa	7.44 \pm 1.22	A
Basal	8.38 \pm 3.03	A
Mezcla	8.43 \pm 3.47	A B
Fructosa	8.96 \pm 2.39	A B
Sacarosa	9.11 \pm 3.43	A B
Control	9.12 \pm 3.97	A B
Glucosa	10.03 \pm 4.46	A B
Ace K	10.80 \pm 1.58	B
Sacarina	10.85 \pm 0.60	B

*Los grupos que no comparte letra difieren estadísticamente. Prueba Games-Howell al 95% de confianza

El grupo de ratas macho que presentó una mediana de actividad específica más alta fue el de sucralosa con 13.36 \pm 1.07 mU/mg, mientras que el valor más bajo fue el grupo control con 5.52 \pm 1.35 mU/mg. Aquellos que difirieron con respecto del grupo control fueron el de sacarina con 9.77 \pm 2.02 mU/mg y el de sucralosa 13.36 \pm 1.07 mU/mg.

Bajo este escenario puede suponerse que la sucralosa obtuvo valores elevados debido al efecto que tiene sobre el metabolismo. Tal como lo reportan Li et al. (2016), la presencia de sucralosa activa los receptores de glucosa y facilita su metabolismo. Por lo tanto, era de esperar un incremento del metabolismo de la glucosa y, como consecuencia, mayores niveles de actividad de la glucoquinasa (GK).

Por otro lado, diversas investigaciones sobre la sacarina han demostrado que su consumo tiene un impacto sobre el incremento de masa corporal, la ingesta de alimento y la ingesta de energía. Estos comportamientos se han detectado en ratas de las estirpes Wistar y Sprague-Dawley, lo cual permite suponer que este ligero incremento de los valores de la GK que se presentaron con respecto al grupo control podría provenir de un mayor consumo de alimento y, por ende, de un mayor consumo de glucosa ya que esta era la única fuente de glucosa.

Estos resultados coinciden parcialmente con lo reportado con Mendoza-Pérez et al. (2022), ya que, si bien los valores no son idénticos, la tendencia general que se sigue en ambas investigaciones es similar. El grupo control presentó los valores más bajos y el grupo fructosa los valores más elevados,

esto exceptuando al grupo sucralosa donde la tendencia discrepa de los resultados reportados por Mendoza-Pérez et al. (2022). Se necesitarán de futuras investigaciones para aclarar estas discrepancias.

En el caso de las ratas hembra cuyos valores de actividad específica no contaron con un comportamiento homocedástico, fue necesario hacer la prueba de Welch para evaluar la hipótesis de que todas las medias fueron iguales. El resultado arrojó un valor de P menor al de 0.05, lo cual indicó la existencia de diferencias estadísticamente significativas en las medias de la actividad específica, con un nivel del 95.0% de confianza.

En las ratas hembra, el grupo que presentó los niveles más altos de la actividad específica fue el que bebió sacarina con 10.85 ± 0.60 mU/mg, mientras que el que presentó los niveles más bajos fue el de sucralosa con 7.44 ± 1.22 mU/mg. No obstante, estadísticamente, ningún grupo presentó diferencia significativa con respecto del grupo control, sin embargo, sí existieron diferencias significativas entre los grupos sacarina (10.85 ± 0.60 mU/mg) y Ace K (10.80 ± 1.58 mU/mg) con respecto con de los grupos de sucralosa (7.44 ± 1.22 mU/mg) y el grupo basal (8.38 ± 3.03 mU/mg).

En el grupo de sacarina, el efecto que se podría estar suscitando sería similar al caso de las ratas macho, donde la alta actividad de la *GK* vendría de un mayor consumo de alimento y una mayor demanda de energía debido a la actividad física. Esta hipótesis se respalda con la investigación realizada por Mendoza-Pérez (2021) donde ratas hembra de la estirpe Wistar que ingirieron sacarina reportaron un mayor consumo de alimento.

Para el caso del grupo que ingirió sucralosa se han presentado resultados completamente diferentes a los de las ratas macho y a la investigación paralela a esta (Mendoza-Pérez et al., 2022). En 2021 apareció un artículo de revisión bibliográfica donde se exploran los efectos de los edulcorantes artificiales e incluye a la sucralosa sobre la inflamación intestinal tomando 166 estudios publicados sobre ratas, ratones y seres humanos mencionando lo siguiente (Basson et al., 2021):

“La **sucralosa** pasa principalmente sin absorberse a través del tracto gastrointestinal (TGI) y se recupera estructuralmente sin cambios en las heces (70–90%) y la orina (14.5%) (27, 33¹²). Los datos de espectrometría de masas indican que algunas moléculas de **sucralosa** se alteran químicamente a medida que pasan por el TGI de los roedores (54, 55), lo que sugiere metabolismo y producción de metabolitos secundarios. La pequeña proporción de **sucralosa** que se absorbe se elimina en su mayor parte sin cambios en la orina, aunque se han detectado dos conjugados de glucurónido de **sucralosa** (que representan ~2.6% de la dosis administrada) después de una dosis oral única en voluntarios sanos (33). Curiosamente, se han informado aumentos en la masa corporal, no atribuidos a la ingesta de alimentos, en ratones a los que se administró **Splenda** en dosis “bajas” (100 mg/kg masa corporal/día), pero no en dosis “altas” (300, 500 y 1000 mg/kg) (56). Los estudios en humanos, animales e *in vitro* sugieren que la **sucralosa** reduce el desarrollo bacteriano (1, 56, 57), puede inhibir o promover selectivamente ese crecimiento bacteriano (29) y promover la disbiosis intestinal (33, 49), lo que coincide con la observación de que las bacterias en un cultivo no utilizan **sucralosa** como fuente de carbono (58, 59). La **sucralosa** puede aumentar la resistencia a los antimicrobianos de *Escherichia coli* y la frecuencia de mutaciones a los antimicrobianos (60) e inhibir la fisiología bacteriana de la diferenciación de las cianobacterias filamentosas y la inducción de capas de polisacáridos (61). La **sucralosa** provocó fuertes efectos bacteriostáticos en especies de *Streptococcus* (29, 62) debido a su capacidad para prevenir la absorción de sacarosa (azúcar de mesa) en la mayoría de los microorganismos (29). Mecánicamente, la **sucralosa** inhibe a la invertasa bacteriana y a la sacarosa permeasa, dos enzimas incapaces de catalizar la hidrólisis o el transporte transmembranal de la **sucralosa** (29). Es posible que las células bacterianas puedan internalizar la **sucralosa**, haciéndolas susceptibles a los efectos químicos del compuesto (63). ...”

Y sobre el metabolismo del triptófano:

¹² Las referencias de estas citas textuales se presentan al final de las referencias de esta contribución

“El metabolismo del triptófano a través de las vías de la quinurenina desempeña un papel importante en la inflamación y la inmunidad (82-84). Se han informado alteraciones en el metabolismo del triptófano, luego del consumo crónico de **sucralosa** (5) o sacarina (4) en niveles equivalentes a la IDA humana aprobada por la FDA, en el microbioma intestinal del ratón C57BL/6J. En concreto, en las heces, la **sucralosa** alteró cuatro compuestos que modulan la inflamación; L-triptófano, ácido quinolínico, ácido 2-aminomucónico (todos aumentados) y ácido quinurénico (disminuido) (5). Es de destacar que se ha informado que el ácido quinolínico es proinflamatorio, mientras que el ácido quinurénico es antiinflamatorio y neuroprotector (85). Los metabolitos del metabolismo de la tirosina también se alteraron, con aumentos de L-tirosina y disminuciones de ácido p-hidroxifenilacético y ácido cinámico (5); Se sabe que este último suprime la producción de especies reactivas de oxígeno (86)...”

Sobre la bilis señalan estos autores:

“La **sucralosa** ha alterado el perfil de ácidos biliares *in vivo*. En ratones C57BL/6J, la suplementación con **sucralosa** durante 6 meses (1.5 mg/mL en agua potable) aumentó el ácido 3-oxo-4,6coladienoico y redujo la 3a,7b,12a-trihidroxioxocolanil-glicina y el 3b,7a-dihidroxi-5-colestenoato y ácido litocólico (5). En otro estudio, la suplementación con **sucralosa** durante 6 semanas en la misma dosis en ratones C57BL/6 antes de la inducción de la colitis redujo la desactivación de las proteasas digestivas mediadas por la bilirrubina desconjugada (6). Otros estudios en ratas han demostrado que la **sucralosa** o sacarina (6 semanas) aumentaron significativamente la quimotripsina y tripsina fecal y disminuyeron la β -glucuronidasa, una enzima necesaria para la desconjugación de la bilirrubina conjugada (57, 126)...”

Sobre el:

“**Receptor activado por proliferador de peroxisomas (PPAR)-alfa**: El receptor alfa activado por proliferador de peroxisomas (PPAR) es un factor transcripcional activado por ligando que regula la expresión del gen de oxidación beta de ácidos grasos y es un importante regulador de la homeostasis energética. PPAR α es un tejido predominantemente expresado con un alto nivel de catabolismo de ácidos grasos, como en el hígado, el corazón, los músculos y el intestino (153). Se ha demostrado que los agonistas de PPAR α ejercen actividades antiinflamatorias y antitrombóticas tanto en la pared vascular como en el hígado (154). En ratas Wistar macho, la **sucralosa** (1.5%) ejerció el mayor efecto en la estimulación de la expresión de PPAR α y CPT-1 en comparación con otros edulcorantes (sacarosa, fructosa, glucosa, glucósidos de esteviol, azúcar moreno, miel y glucósido de esteviol+sacarosa) y con los especímenes no tratados (agua corriente) [control] (92). Se sugirió que el efecto de la **sucralosa** sobre la expresión de PPAR α explicaría el aumento de la formación de cuerpos cetónicos y la gluconeogénesis, lo que a su vez aumentó los niveles de glucosa e insulina y la intolerancia a la glucosa, como se observó en roedores alimentados con sacarosa (92). Si bien se ha demostrado que los activadores de PPAR α regulan la obesidad en roedores, estos efectos están influenciados por el estrógeno y, por lo tanto, se ejercen con un dimorfismo específico (155). En este sentido, se requieren más estudios tanto en animales machos como hembras...”

Y sobre la:

“**Desintoxicación del citocromo P450-Xenobiótico**. En ratas Sprague Dawley, **Splenda** ejerció un efecto dependiente de la dosis sobre la expresión de la glicoproteína ‘p’ intestinal y del citocromo P-450 (CYP) intestinal, que participan en la desintoxicación de xenobióticos en el intestino y el hígado. Es decir, **Splenda** mejoró el nivel de expresión de P-gp en dosis de 300, 500 y 1000 mg/kg/día, y mejoró CYP3A4 (1000 mg/kg/día) y la expresión de CYP2D1 (500 y 1000 mg/kg/día) (56). Es posible que la expresión mejorada de P-gp y CYP en concentraciones más altas afecte la biodisponibilidad de **Splenda**; por lo tanto, se absorbe menos **Splenda** en concentraciones más altas, lo que resulta en efectos más pronunciados sobre la microbiota intestinal y diferencias de masa corporal...”

Sobre:

“El estrés oxidativo es un regulador importante de la claudina-3 y está asociado con la permeabilidad inducida por *LPS* [Lipopoliglicidos polianiónicos, *polyanionic lipopolysaccharides* en inglés, que juegan un rol importante regulando la permeabilidad de la membrana externa -*outer membrane*, *OM*- de las bacterias Gram-

negativas]¹³... La suplementación con **sucralosa** (0.1 mg/mL, 6 meses) elevó la expresión de mediadores proinflamatorios en el hígado, a saber, metaloproteinasa de matriz 2 (MMP-2) e iNOS (5). En particular, también se encontró que la catalasa y la catalasa-peroxidasa, dos genes antioxidantes bacterianos que responden a las ROS y que por sí mismos pueden estimular las citocinas proinflamatorias (157), que se encontraron aumentados en los grupos suplementados con **sucralosa** (5)...”

Sobre la estevia y la sucralosa estos autores señalan:

“También se ha examinado el efecto de los edulcorantes artificiales (*AS*, *artificial sweeteners*) sobre las inmunoglobulinas (Ig). Los ratones Balb/c suplementados con stevia (4.2 mg/mL de estevia administrados como SweetLeaf) o **sucralosa** (5.2 mg/mL de sucralosa administrados como Sweetal) durante 18 semanas dieron como resultado niveles aumentados de diferentes inmunoglobulinas (IgG, IgE e IgA) en comparación con controles suplementados (recibieron agua potable normal) (2)...”

Por ende, se deberá seguir indagando su efecto tanto en hembras como en machos, ya que se aprecia que el efecto depende del sexo del espécimen y de muchos otros factores que pudieron haber influido en estas diferencias, incluso la toma de la muestra de tejido hepático aún siendo del mismo órgano del mismo espécimen.

La tendencia en cuanto a la diferencia significativa entre grupos sigue un comportamiento similar a lo reportado por Mendoza-Pérez et al. (2022). La tendencia observada en ambas investigaciones fue que el grupo de especímenes que ingirieron sucralosa presentó los valores más bajos y el grupo de glucosa resultó ser uno de los más altos, exceptuando al grupo que bebió agua con sacarina cuyo orden discrepó. Se necesitarán de futuras investigaciones para aclarar estas discrepancias que probablemente se deban a la parte de tejido hepático tomada para los análisis como ya se mencionó arriba.

Discusión final

Los grupos control de las ratas macho y hembra presentaron una media de actividad específica de 6.22 ± 2.32 mU/mg y de 9.12 ± 3.97 mU/mg, respectivamente. Esto concuerda con lo reportado en el ensayo de Walker y Parry (1966) quienes obtuvieron un valor de media de 8.7 mU/mg partiendo de un conjunto de 10 muestras de tejido hepático de ratas Wistar.

Por otro lado, tal como se aprecia en las Tablas 2 y 3, la comparación entre el grupo basal y el grupo control no reporta diferencia estadísticamente significativa ni para las ratas macho ni para las ratas hembra, lo cual permite suponer que, el tiempo previo a la eutanasia, no fue una variable que pudiera afectar los niveles de actividad de la *GK*.

Los resultados obtenidos entre ratas macho y hembra permiten suponer el hecho de que el sexo puede ser una determinante en el efecto de los edulcorantes. Por ello, para poder evaluar esta hipótesis sobre si existen diferencias significativas entre edulcorante y el sexo, se realizó un ANDEVA de dos vías. En la Tabla 4 y la Gráfica 4 se muestran el análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías y la gráfica de interacción edulcorante-sexo, respectivamente. En ellas se aprecia que el sexo resultó ser un factor estadísticamente significativo ($P=0.0393$), pero no así el factor edulcorante. Adicionalmente, el ANDEVA muestra que la interacción entre el edulcorante-sexo resultó ser significativa con un valor $P=0.0001$ y por ello no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el edulcorante ingerido, sin hacer alguna distinción entre ambos sexos, pero sí hubo entre la interacción de los grupos de ratas macho y hembra. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que dos valores-P fueron menores que 0.05, estos factores presentaron un efecto estadísticamente

¹³ Es importante ir cambiando paulatinamente una información muy extendida de llamar a los glúcidos (porque el monómero de origen es la glucosa) ‘sacáridos’, tanto en español como en inglés. En realidad, la sacarosa es también un glúcido ya que la mitad de su molécula es glucosa y la otra mitad fructosa [Nota de los(as) editores(as)]

significativo sobre la actividad específica con un 95.0% de nivel de confianza. La razón a la cual es posible atribuir esta diferencia entre los sexos son las distintas vías de regulación de la *GK* de las cuales es posible mencionar tres:

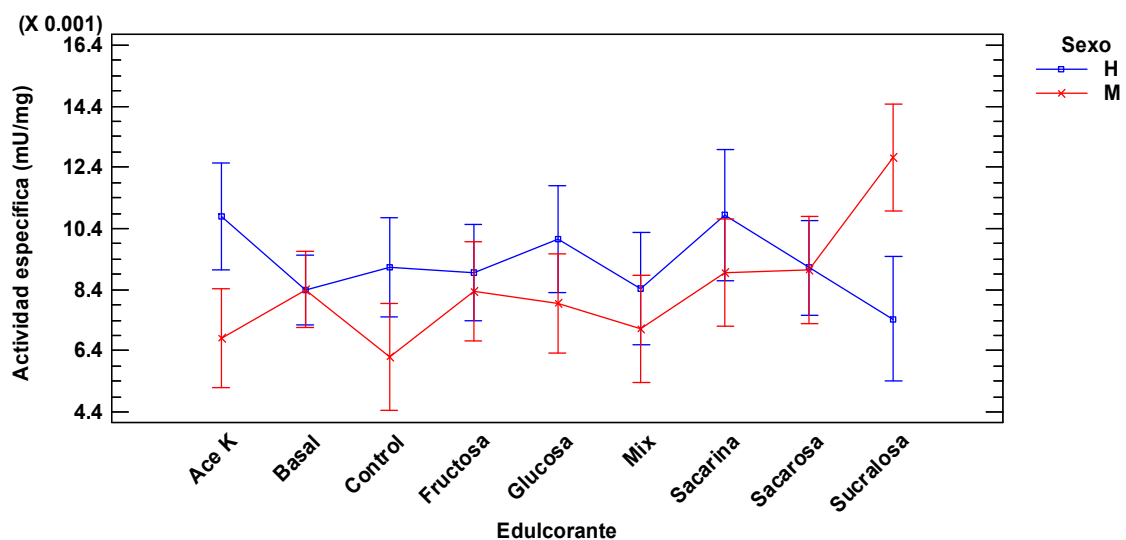
1) La primera vía de regulación es el sustrato, es decir, la cantidad de alimento consumido y a la bebida ingerida (o edulcorante consumido). Se sabe que el motor principal para llevar a cabo la glucólisis es la glucosa. La glucosa proviene del alimento y/o de la bebida que se suministró, por lo que un mayor o menor consumo de estos dos componentes junto con la actividad física de los modelos bajo estudio podría estar impactando en los niveles de *GK* estimulándola en mayor o en menor grado.

2) La segunda vía de regulación es la hormonal, donde se encuentran la insulina, el glucagón y las incretinas *GIP* y *GLP-1c*. Esta regulación de la *GK* resulta de manera indirecta, ya que la acción de estas hormonas se lleva a cabo sobre las células hepáticas, las cuales se encuentran en función de la concentración de glucosa en sangre. A altas concentraciones, tanto la hormona *GIP* como la hormona *GLP-1* liberan desde las células β a la hormona insulina, reduciendo de esta forma dicha concentración, dando paso a la glucólisis y a la activación de la *GK*. El glucagón funciona de manera inversa a la insulina y es liberado desde las células α cuando son detectadas concentraciones bajas de glucosa en la sangre para transformar vía glucogenólisis y gluconeogénesis al glucógeno, piruvato, lactato y glicerol en glucosa, lo cual implica un paro en la actividad de la *GK* (Yip y Wolfe, 1999).

Tabla 4. Análisis de varianza de dos vías para determinar la actividad específica

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F ¹	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Grupo	0.000125027	8	0.0000156284	1.65	0.1110
B: Sexo	0.000040641	1	0.000040641	4.30	0.0393
INTERACCIONES					
AB	0.000313356	8	0.0000391695	4.14	0.0001
RESIDUOS	0.00219378	232	0.00000945596		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0026887	249			

¹Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual; Gl: Grados de libertad



Gráfica 4. Interacciones e intervalos de la media al 95% de confianza

La *GKRP* y *PFK2/FBP2* son otras hormonas cuya función también es regular a la *GK*, pero de una manera más directa, ya que lo hace a través de la formación de un complejo con la misma y va en función de la concentración de glucosa en sangre. A bajas concentraciones, la *GKRP* es quien forma este complejo para limitar la actividad de la *GK*, donde la presencia de la fructosa 6-fosfato (*F6P*) o de la fructosa 1-fosfato (*F1P*) favorecen o reducen su afinidad; la *PFK2/FBP2* por otro lado, a altas concentraciones de glucosa en la sangre, es quien forma este complejo y favorece la actividad de la *GK* (Payne et al., 2007).

3) La tercera vía de regulación es a través de los factores de transcripción, siendo más específico el de la proteína de unión al elemento regulador del colesterol (*SREBP-1c*, por sus siglas en inglés) y de la proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (*ChREBP*, por sus siglas en inglés). Ya que si bien, *SREBP-1c* se encarga de regular la lipogénesis a través de la transcripción de genes codificantes para las enzimas involucradas en el proceso, también lo hacen para la glucólisis, ya que se encarga de la codificación para la *GK* además de ser activado por la insulina y suprimido por el glucagón. Para el caso de *ChREBP*, si bien no tiene ningún impacto directo en la *GK*, sí tiene un efecto sinérgico con *SREBP* para la generación de lípidos (López-Oliva y Muñoz-Martínez, 2013).

Con todas estas variables en juego es posible suponer que, con la alteración de alguna de ellas, la actividad enzimática de la *GK* podría verse favorecida o reducida.

Durante la ingesta de alimento, los niveles de glucosa se elevan y tanto la glucólisis como la lipogénesis se activan. Sin embargo, cuando el consumo de glucosa es superior a lo que requiere el cuerpo, la lipogénesis tiene una mayor actividad. Además de estas vías, el cuerpo humano se apoya de otras más para reducir la glucosa, tales como la glucogénesis y la vía de las pentosas fosfato, ambas usando a la glucosa 6-fosfato como precursor (Bollen et al., 1998; Horecker, 2002).

Conclusiones

Con base en esta experimentación puede concluirse lo siguiente:

1. El consumo crónico de edulcorantes no nutritivos desde el destete hasta la etapa de jóvenes adultos influyó en que existieran diferencias estadísticamente significativas en las ratas macho entre el grupo basal y el grupo que bebió sucralosa, y en el caso de las ratas hembra entre los grupos basal y sucralosa con respecto a los grupos que bebieron acesulfame de K y sacarina.
2. Las ratas macho y hembra que consumieron la bebida con el edulcorante sacarina fueron las que tuvieron los valores promedio más altos de actividad específica, mientras que el grupo control fue el que tuvo en promedio el valor más bajo de actividad de la glucoquinasa.
3. Dado lo anterior, el factor sexo resultó ser significativo. Por lo tanto, los niveles de actividad enzimática resultaron dependientes de éste.
4. En las ratas macho, los grupos sucralosa y sacarina reportaron diferencias significativas con respecto al grupo control con un valor más alto al obtenido para este último, lo cual permite suponer que las rutas metabólicas de la glucosa tienen una mayor actividad tras el consumo de estos edulcorantes no nutritivos.
5. No se presentaron diferencias estadísticamente significativas de la actividad específica de la *GK* entre los grupos basal y control tanto para las ratas macho como para las hembras, lo cual significa que, a los 160 días de vida de la rata, el tiempo no es una variable determinante.
6. Se demostró que el tipo de edulcorante ingerido es un factor significativo para los niveles de actividad enzimática de la glucoquinasa en muestras hepáticas.

Glosario

Término	Significado
0.02	Volumen de extracto hepático agregado (Ecuación 1)
0.6	Volumen final en la celda del espectrofotómetro UV (Ecuación 1)
6.22	Coefficiente de extinción milimolar de NADP^+ (Ecuación 1)
Abs	Absorbancia obtenida a 595 nm (Tabla 2)
ADP	Siglas en inglés para el adenosindifosfato
ATP	Siglas en inglés para el adenosintrifosfato, donde el glucagón se encarga de incrementar los niveles de glucosa en sangre y es liberado de manera muy similar a la insulina por las células alfa a través de una estimulación en el canal de potasio dependiente de ATP (K_{ATP}), el cual sitúa el potencial de membrana celular en un rango que permite la apertura de canales de sodio (Na^+) y de calcio (Ca^{+2}). El aumento en la concentración intracelular de estos 2 iones despolariza la membrana e incrementan la conductancia al Ca^{+2} (Lima-Martínez et al., 2011). Ambas hormonas regulan la homeostasis de la glucosa a través del incremento y la reducción de su concentración en el plasma sanguíneo. Por ello, a mayor concentración de insulina, la GK se encontrará más activa, mientras que, a mayor concentración de glucagón, su actividad será menor (Nirmalan y Nirmalan, 2020; Zazueta, 2007)
ChREBP	Siglas en inglés de la proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (<i>Carbohydrate response element binding protein</i>)
Coef var	Coefficiente de variación (Tabla 2)
DAM	Desviación Absoluta de la Mediana (Tablas 2 y 3)
dx	En un método de regresión polinómica se aplica la primera derivada (dx) para obtener la pendiente de la recta tangente evaluándose al tiempo 0 permitiendo calcular la velocidad inicial $\Delta\text{abs}/\text{min}$
Exocitosis	(Ver sulfonilurea y SUR abajo) La exocitosis es la fusión de vesículas con la membrana plasmática. Las vesículas son producidas principalmente por el aparato de Golgi, desde su dominio trans, y viajan hasta la membrana plasmática con quien se fusionan (https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/5-exocitosis.php#:~:text=La%20exocitosis%20es%20la, endosomas%20(ver%20m%C3%A1s%20adelante):):
	<p>El diagrama muestra tres escenarios de fusión de vesículas con la membrana plasmática:</p> <ul style="list-style-type: none"> Fusión total: Una vesícula (verde) se fusiona completamente con la membrana plasmática, resultando en una membrana vesicular integrada. "Kiss and run": Una vesícula (verde) se fusiona brevemente con la membrana plasmática, formando un poro pasajero que luego se cierra. Exocitosis compuesta: Distintas vesículas (verdes) se fusionan entre sí y con la membrana plasmática.
F1P	Siglas en inglés de la fructosa 1-fosfato
F6P	Siglas en inglés de la fructosa 6-fosfato
fd	Factor de dilución (Ecuación 1)
G-6-F-DH	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
G6P, G-6-P	Siglas en inglés de la glucosa-6-fosfato (G6P). El principal mecanismo de secreción de insulina es a través de su liberación por los niveles elevados de glucosa plasmática. En las células β pancreáticas una vez que ingresa la glucosa a la célula es captada por la

Término	Significado
	<i>GK</i> y fosforilada a <i>G6P</i> pasa por la vía de la glucólisis para ser transformado en piruvato e ingresa a la mitocondria para pasar por el ciclo de Krebs. Esto ocasiona un incremento de los niveles de <i>ATP/ADP</i> . El incremento de la relación <i>ATP/ADP</i> provoca el cierre del canal de potasio (K^+) sensible a <i>ATP</i> , despolarizando la membrana y abriendo el canal de calcio (Ca^{2+}) dependiente del voltaje. El ingreso de calcio provoca, después de una serie de reacciones en cadena, la exocitosis de la insulina (Santamaría-Duque, 2022)
<i>GIP</i>	Siglas en inglés de la incretina polipéptido inhibidor gástrico (<i>gastric inhibitory polypeptide</i>). Hormona gastrointestinal de estructura polipeptídica, compuesta por 43 aminoácidos, que tiene un efecto inhibitor de la secreción y motilidad gástrica
<i>GK</i>	Siglas en inglés de la enzima glucoquinasa objeto de esta investigación. La glucoquinasa (<i>GK</i>) tiene como función catalizar la transferencia del grupo fosforilo del complejo <i>ATP-Mg</i> al sexto carbono de la glucosa para formar la glucosa-6-fosfato (<i>G6P</i>) durante la "fase preparatoria" de la glucólisis, siendo la primera enzima en actuar ante una variación en los niveles de glucosa en sangre. Se expresa principalmente en el hígado y páncreas. En las células del hígado, la <i>GK</i> regula el nivel en el que se llevará a cabo la glucólisis. En contraste, en las células α y β del páncreas, la concentración de glucosa en sangre es regulada a través de la liberación de glucagón e insulina (Li et al., 2018)
<i>GKRP</i>	Siglas en inglés de la proteína reguladora de glucoquinasa
<i>GLP-1c</i>	Siglas en inglés de la incretina <i>glucagon like peptide-1c</i> . El péptido similar al glucagón-1 (GLP-1) es una hormona intestinal sintetizada en las células L intestinales cuya secreción depende de la presencia de nutrientes en la luz del intestino delgado
Glucólisis	La glucólisis se basa en una serie de reacciones catalizadas enzimáticamente dentro del citosol que extraen energía de la glucosa al romperla en dos moléculas de tres carbonos llamadas piruvato. La glucólisis consiste en diez pasos divididos en dos fases. La "fase preparatoria" donde la glucosa es atrapada dentro de la célula y usa energía para transformarse en gliceraldehído 3-fosfato y la "fase de beneficios" donde se extrae energía a través de la conversión oxidativa del gliceraldehído 3-fosfato en piruvato con formación de <i>ATP</i> y <i>NADH</i> (Nelson y Cox, 2019)
IDA	Ingesta diaria admisible
<i>NADP⁺</i>	Siglas en inglés para nicotinamida adenina nucleótido fosfato (<i>nicotinamide adenine nucleotide phosphate</i>)
<i>NADPH</i>	Siglas en inglés para nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (<i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>)
<i>PFK2/FBP2</i>	Siglas en inglés de la proteína 6-fosfofructo-2-quinasa/fructosa 2,6-bisfosfatasa
<i>SREBP-1c</i>	Siglas en inglés para la proteína de unión al elemento regulador del esteroil
Sulfonilureas	(Figura 2) "Las sulfonilureas son [medicamentos] hipoglicemiantes orales usados en el tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2 [en los seres humanos], que actúan estimulando la secreción de insulina por parte de las células beta del páncreas. Estudios recientes revelaron que estos fármacos se unen a receptores específicos en la membrana celular de los islotes pancreáticos induciéndose el cierre de los canales de potasio sensibles a [I] <i>ATP</i> , lo que provoca aumento en el contenido intracelular de potasio y despolarización de la célula conduciendo a la apertura de los canales de calcio-voltaje-dependiente entrando este al [sistema] intracelular y liberándose insulina a partir de los gránulos maduros" (Contreras et al., 2002)
<i>SUR</i>	"A principio de los años 80 [del siglo pasado] se descubrió que la acción de las sulfonilureas se debe a la ocupación de un receptor de la membrana de la célula beta del páncreas, el <i>SUR1</i> . En la actualidad, se han hechos enormes avances en el conocimiento del mecanismo de acción de estos fármacos dilucidándose no solamente la existencia de los receptores de sulfonilurea [<i>SUR</i> , <i>sulfonylurea receptors</i>], sino también su funcionamiento" (Contreras et al., 2002) (Figura 2)
<i>Tris</i>	Nombre abreviado del compuesto orgánico tri(hidroximetil)aminometano, de fórmula

Término	Significado
U	(HOCH ₂) ₃ CNH ₂ . Nombre IUPAC 2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol Actividad enzimática: Cantidad de enzima que cataliza la fosforilación de 1 μmol de glucosa por minuto a 28°C y pH= 9.0 (Ecuación 1)
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
Valores-P	Valor de significancia estadística calculados por el programa Statgraphics Centurion XVI

Símbolos griegos

Δabs/min Velocidad inicial para calcular la actividad de la enzima de interés

Reconocimientos

Los autores agradecen a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por el apoyo para la adquisición de materiales y reactivos a través de los siguientes programas: El Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado (PAIP), clave 5000-9067 y al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), clave IN217619.

Agradecimientos

Los autores quieren reconocer la valiosa dirección de la Dra. María del Carmen Durán-Domínguez-de-Bazúa y del M. en C. Rolando Salvador García-Gómez así como la asesoría recibida antes, durante y después de la pandemia por COVID 19 para la realización de esta investigación, así como también por el apoyo incondicional recibido y su cálida amistad.

Referencias bibliográficas

- Agius, L. 2016. Hormonal and metabolite regulation of hepatic glucokinase. *Annual Review of Nutrition*. 36:389-415. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071715-051145>
- Bassoli, A., Merlini, L. 2003. Sweeteners. *Intensive*. En *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Caballero, B., ed. Academic Press, 2a ed., pp. 5688-5695. Londres, Reino Unido.
- Basson, A.R., Rodríguez-Palacios, A., Cominelli, F. 2021. Artificial Sweeteners: History and New Concepts on Inflammation. *Front. Nutr.* 8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.746247>
- Berrios-Roque, A.S. 2021. Efecto del consumo crónico de edulcorantes calóricos sobre los patrones de ganancia corporal, el consumo de alimentos y bebida y la ingesta energética de ratas Wistar durante la etapa de crecimiento (destete a 165 días). Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Julio 02, 2021 (virtual). Ciudad de México, México. www.132.248.9.195/ptd2021/septiembre/0814811/Index.html
- Bian, X., Tu, P., Chi, L., Gao, B., Ru, H., Lu, K. 2017. Saccharin induced liver inflammation in mice by altering the gut microbiota and its metabolic functions. *Food and Chemical Toxicology*. 107: 530-539. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.04.045>
- Bisswanger, H. 2014. Enzyme assays. *Perspectives in Science*. 1(1): 41-55. <https://doi.org/10.1016/j.pisc.2014.02.005>
- Bollen, M., Keppens, S., Stalmans, W. 1998. Specific features of glycogen metabolism in the liver. *Biochemical Journal*. 366(1): 19-31. <https://doi.org/10.1042/bj3360019>
- Campos-Acevedo, N.P. 2017. Alteración de la microbiota intestinal causada por los edulcorantes artificiales hipocalóricos. Título de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Abril 28, 2017. Ciudad de México, México. [132.248.9.195/ptd2017/octubre/0766508/Index.html](http://www.132.248.9.195/ptd2017/octubre/0766508/Index.html)
- Carraro-Foletto, K., Melo-Batista, B.A., Magagnin-Neves, A., de-Matos-Feijó, F., Reis-Ballard, C., Marques-Ribeiro, M.F., Casaccia-Bertoluci, M. 2016. Sweet taste of saccharin induces "weight"¹⁴ gain without increasing caloric intake, not related to insulin-resistance in Wistar rats. *Appetite*. 96:604-610. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.11.003>
- Carrillo-Núñez, S.G. 2011. Estudios estadísticos sobre los datos de ganancia en masa corporal de animales de laboratorio que ingirieron edulcorantes en el agua potable. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Diciembre 2, 2011. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2012/mayo/0679841/Index.html>

¹⁴ *Weight*, peso en español, es incorrecta ya que el peso es una fuerza que se mide en Newtons. Debería usarse la palabra masa, *mass* en inglés [Nota de los(as) editores(as)]

- Castro-Reyes, L.F. 2022. Efecto del consumo crónico de edulcorantes hipocalóricos en la etapa adulta de un modelo animal sobre los patrones de ganancia de masa corporal y los niveles séricos de glucosa y triglicéridos. Tesis de Químico de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Marzo 9, 2022. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2022/febrero/0822086/Index.html>
- Contreras, F., Romero, B., Suárez, N., González, M., Fouilloux, C., Guevara, E., Betancourt, M.C., Torres, D., Velasco, M. 2002. Receptores Sur y Sulfonilureas en el tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. 21(2): 148-155. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_isoref&pid=S0798-02642002000200003&lng=es&tlng=es
- de-Matos-Feijó, F., Reis-Ballard, C., Carraro-Foletto, K., Melo-Batista, B.A., Magagnin-Neves, A., Marques-Ribeiro, M.F., Casaccia-Bertoluci, M. 2013. Saccharin and aspartame, compared with sucrose, induce greater "weight"⁹ gain in adult Wistar rats, at similar total caloric intake levels. *Appetite*. 60(1): 203-207. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.10.009>
- DOF. 1999. NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación. Recuperado el 24 de agosto de 2021. [En línea]. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf
- Escalada, F. 2014. Fisiología del GLP-1 y su papel en la fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2. *Medicina Clínica*. 143(S2):2-7. [https://doi.org/10.1016/S0025-7753\(14\)70101-0](https://doi.org/10.1016/S0025-7753(14)70101-0)
- Espinoza-Pérez, L.D., García-Sánchez, M. 2018. Estudios histológicos y bioquímicos en diferentes tejidos de 176 ratas macho y hembra de la cepa Wistar en relación con la ingesta de edulcorantes calóricos e hipocalóricos. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Agosto 09, 2018. Ciudad de México, México. 132.248.9.195/ptd2018/julio/0776581/Index.html
- Fasold, H., Gundlach, G. 1974. Characterization of peptides and proteins with enzymes. En *Methods of enzymatic analysis*. Bergmeyer, H.U., ed. Academic Press. Vol. 4, pp. 1625-1639. Nueva York, EE. UU. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-091304-6.50007-0>
- Flores-Serrano, J.I. 2022. Análisis y caracterización de edulcorantes naturales y artificiales en disolución acuosa mediante la optimización de una técnica de cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Septiembre 26, 2022. Ciudad de México, México. 132.248.9.195/ptd2022/junio/0826608/Index.html
- Fox, S. 2017. Fisiología humana, 14a. ed. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/ViewLarge.aspx?figid=200669669&gbosContainerID=0&gbosid=0&groupID=0§ionId=162709590&multimediaId=undefined>
- González-Filomeno, E. 2007. Efecto biológico de la adición de fructosa, sacarosa, sucralosa o aspartame al agua de beber mediante el suministro a ratas de laboratorio. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Septiembre 10, 2007. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/pd2007/0622237/Index.html>
- Goward, C.R., Hartwell, R., Atkinson, T., Scawen, M.D. 1986. The purification and characterization of glucokinase from the thermophile *Bacillus stearothermophilus*. *Biochemical Journal*. 237(2):415-420. <https://doi.org/10.1042/bj2370415>
- Guzmán-Gómez, M.B. 2013. Efecto de la ingestión crónica de edulcorantes naturales y artificiales en un modelo animal en la ganancia de masa corporal a lo largo de 270 días. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Enero 17, 2013. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2013/enero/0688966/Index.html>
- Helstad, S. 2019. Corn Sweeteners - Sweetness. En *Corn. Chemistry and Technology*. Serna-Saldívar, S.O., ed. Woodhead Publishing and AACCI International Press. 3a. ed. Chapter 20. Pp. 551-591. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00020-6>
- Horecker, B.L. 2002. The pentose phosphate pathway. *Journal of Biological Chemistry*. 277(50): 47965-47971. <https://doi.org/10.1074/jbc.X200007200>
- Kim, J., Egan, J.M. 2008. The role of incretins in glucose homeostasis and diabetes treatment. *Pharmacological Reviews*. 60(4): 470-502. <https://doi.org/10.1124/pr.108.000604>
- Kruger, N.J. 2009. The Bradford method for protein quantitation. En *The Protein Protocols Handbook*, Walker, J.M., ed., Human Press, 3a ed., pp. 17-24. Totowa, EE. UU. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-198-7_4
- Li, Q., Gakhar, L., Spies, M.A. 2018. Determinants of human glucokinase activation and implications for small molecule allosteric control. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 1862(9): 1902-1912. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.06.001>
- Lima-Martínez, M.M., Betancourt, L., Bermúdez A., 2011. Glucagón: ¿Un simple espectador o un jugador clave en la fisiopatología de la diabetes? *Avances en Diabetología*. 27(5):160-167. <https://doi.org/10.1016/j.avdiab.2011.09.002>
- López-Oliva, M.E., Muñoz-Martínez, E. 2013. SREBP-1c, ChREBP y LXR: Su influencia en el desarrollo del hígado graso no alcohólico. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. 80(1):14-48.
- Martínez, C., González, E., García, R.S., Salas, G., Constantino-Casas, F., Macías, L., Gracia, I., Tovar, C., Durán-de-Bazúa, C. 2010. Effects on body mass of laboratory rats after ingestion of drinking water with sucrose, fructose, aspartame, and sucralose additives. *The Open Obesity Journal*. 2: 116-124. <https://doi.org/10.2174/1876823701002010116>
- Martínez-Tinajero, C. 2010. Efecto biológico de la adición de sacarosa, fructosa y/o edulcorantes artificiales al agua de beber suministradas a ratas de laboratorio. Tesis de Química Farmacéutica Bióloga. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Defensa: Diciembre 15, 2010. Ciudad de México, México.
- Mendoza-Pérez, S. 2021. Efecto de los edulcorantes nutritivos y no nutritivos sobre la actividad de las enzimas reguladoras de la glucólisis y la lipogénesis. Tesis de Doctorado en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. UNAM. Defensa: Octubre 29, 2021. Ciudad de México, México. 132.248.9.195/ptd2021/septiembre/0815503/Index.html
- Mendoza-Pérez, S. 2017. Efecto de la ingesta de diferentes edulcorantes sobre la liberación de las hormonas incretinas GLP-1 y GIP y su efecto sobre la lipogénesis. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. UNAM. Defensa: Marzo 14, 2017. Ciudad de México, México.

- <http://132.248.9.195/ptd2017/febrero/0755418/Index.html>
- Mendoza-Pérez, S., García-Gómez, R.S., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2022. Chronic intake of nutritive sweeteners and saccharin increases levels of glycolytic and lipogenic enzymes in rat liver. *International Journal of Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/09637486.2022.2088705>
- Negrete-Lira, S. 2022. Repercusiones de la microbiota intestinal y la dieta en el desarrollo y maduración del sistema inmunológico en ratas hembra y macho de la estirpe Wistar. Tesis de Químico de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Diciembre 9, 2022. Ciudad de México, México. 132.248.9.195/ptd2022/noviembre/0833114/Index.html
- Nelson, D., Cox, M. 2009. Leningher. Principios de Bioquímica. Omega, 5ª ed., pp. 527-569. Barcelona, España.
- Nieto-Bejarano, A.E. 2014. Efecto de la ingestión a corto plazo de edulcorantes naturales y artificiales en un model animal. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Mayo 20, 2014. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2014/abril/0711998/Index.html>
- Nirmalan, N, Nirmalan, M. 2020. Hormonal control of metabolism: Regulation of plasma glucose. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*. 21(11): 578-583. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2020.08.002>
- Niu, W., Kong, H., Wang, H., Zhang, Y., Zhang, S., Zhang, X. 2012. A chemiluminescence sensor array for discriminating natural sugars and artificial sweeteners. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 402: 389-395. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5305-8>
- Olivares-Reyes, J.A., Arellano-Plancarte, A. 2008. Bases moleculares de las acciones de la insulina. *REB* 27(1):9-18. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2008/reb081c.pdf> http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2008/01/f_Articulo2.pdf
- Orta-Méndez-y-Sánchez, I. 2016. Evaluación de edulcorantes artificiales empleando modelos animales. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Agosto 09, 2016. Ciudad de México, México. 132.248.9.195/ptd2016/julio/0746867/Index.html
- Palmnäs, M.S.A., Cowan, T.E., Bomhof, M.R., Su, J., Reimer, R.A., Vogel, H.J., Hittel, D., Shearer, J. 2014. Low-dose aspartame consumption differentially affects gut microbiota-host metabolic interactions in the diet-induced obese rat. *PLoS ONE*. 9(10):e109841. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109841>
- Payne, V.A., Arden, C., Lange, A.J., Agius, L. 2007. Contributions of glucokinase and phosphofructokinase-2/fructose biphosphatase-2 to the elevated glycolysis in hepatocytes from Zucker fa/fa rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 293(2): R618-R625.
- Reyes-Díaz, C.A., Pérez-Rico, J.M. 2010. Efecto de la ingestión crónica de edulcorantes naturales y artificiales en un modelo animal en la ganancia en masa corporal. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Septiembre 06, 2010. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptb2010/septiembre/0661261/Index.html>
- Reynoso-Amado, J.A. 2022. Efectos del consumo de edulcorantes calóricos e hipocalóricos en un corto y mediano plazo sobre la microbiota intestinal y la salud de ratas y ratones Efectos del consumo de edulcorantes calóricos e hipocalóricos en un corto y mediano plazo(s) sobre la microbiota intestinal y la salud de ratas y ratones. Tesis de Químico de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Junio 09, 2022. Ciudad de México, México. 132.248.9.195/ptd2022/marzo/0823096/Index.html
- Robles-Sánchez, R. 2022. Efecto del consumo crónico de edulcorantes sobre los niveles de actividad de la enzima ácido graso sintasa (FAS). Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Noviembre 7, 2022. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2022/junio/0827050/Index.html>
- Rodríguez-Ramírez, J. 2022. Estudio de las correlaciones de diversos parámetros fisiológicos y bioquímicos de ratas macho y hembra que consumieron de forma crónica edulcorantes calóricos e hipocalóricos durante 480 días. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Noviembre 7, 2022. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2022/octubre/0832093/Index.html>
- Rosas-Aguilar, D.L. 2022. Efecto del consumo crónico de edulcorantes sobre los niveles de actividad de la enzima ácido graso sintasa (FAS) en tejido hepático de modelos animales. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Octubre 14, 2022. 132.248.9.195/ptd2022/junio/0826609/Index.html
- Sánchez-González, A.E. 2021. Efecto del consumo crónico de edulcorantes sobre la expresión de la proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (ChREBP) en tejido hepático de modelos animales. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Octubre 5, 2021 (presencial). Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2021/julio/0813653/Index.html>
- Santamaría-Duque, C. 2022. Insulina. Función fisiológica y acciones farmacológicas. Recuperado el 02 de septiembre de 2022. [En línea]. Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Poster/CRISTIAN%20SANTAMARIA%20DUQUE.pdf>
- Soto-González, J.L. 2022. Estudio de las correlaciones de diversos parámetros bioquímicos de ratas macho y hembra que consumieron de forma crónica edulcorantes nutritivos y no nutritivos durante 480 días de experimentación relacionados con el corazón y el tejido retroperitoneal. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Septiembre 26, 2022. Ciudad de México, México. 132.248.9.195/ptd2022/mayo/0825439/Index.html
- Soto-Medina, J.C. 2022. Efecto del consumo crónico de edulcorantes sobre los niveles de actividad de la enzima glucoquinasa (GK). Director de tesis: M. en C. Rolando Salvador García Gómez. Asesor Técnico: Dr. Samuel Mendoza Pérez. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Noviembre 25, 2022. Ciudad de México, México. 132.248.9.195/ptd2022/octubre/0832047/Index.html
- Sternisha, S.M., Miller, B.G. 2019. Molecular and cellular regulation of human glucokinase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 663:199-213. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.01.011>

- Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C.A., Maza, O., Israeli, D., Zmora, N., Gilad, S., Weinberger, A., Kuperman, Y., Harmelin, A., Kolodkin-Gal, I., Shapiro, H., Halpern, Z., Segal, E., Elinav, E. 2014. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*. 514: 181-186.
- Swithers, S.E., Baker, C.R., Davidson, T.L. 2009. General and persistent effects of high-intensity sweeteners on body "weight"¹⁵ gain and caloric compensation in rats. *Behavioral Neuroscience*. 123: 772-780. <https://doi.org/10.1037/a0016139>
- Swithers, S.E., Davidson, T.L. 2008. A role for sweet taste: Calorie predictive relations in energy regulation by rats. *Behavioral Neuroscience*. 122(1): 161-173. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.122.1.161>
- Swithers, S.E., Martin, A.A., Davidson, T.L. 2010. High-intensity sweeteners and energy balance. *Physiology & Behavior*. 100(1): 55-62. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.12.021>
- Swithers, S.E., Sample, C.H., Davidson, T.L. 2013. Adverse effects of high-intensity sweeteners on energy intake and "weight"¹⁰ control in male and obesity-prone female rats. *Behavioural Neuroscience*. 127(2): 262-274. <https://doi.org/10.1037/a0031717>
- Tercero-Reyes, D.A. 2021. Efecto del consumo crónico de edulcorantes calóricos sobre la homeostasis energética en ratas Wistar: Patrones de ganancia de masa corporal y los niveles séricos de glucosa y triglicéridos. Tesis de Químico de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Septiembre 01, 2021 (Virtual). Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2021/noviembre/0819817/Index.html>
- Tiefenbacher, K.F. 2017. Technology of Main Ingredients-Sweeteners and Lipids. Relative sweetness and Sinergy. En Wafer and Waffle. Processing and Manufacturing. Academic Press. Elsevier Inc. Chapter 3. Pp. 123-225. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809438-9.00003-X>
- Tudurí-López, E. 2009. Regulación de la secreción de glucagón por ATP extracelular y leptina en célula alfa pancreática. Tesis doctoral. Departamento de Biología Aplicada, Instituto de Bioingeniería, Universitat Miguel Hernández. Elche, España.
- Van Schaftingen, E. 2020. Hexokinase/Glucokinase. En Encyclopedia of Biological Chemistry, Jez, J., ed., Elsevier 3a ed., Vol. 1, pp. 149-161. Amsterdam, Países Bajos. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819460-7.00034-7>
- Vega-Jiménez, J.A. 2019. Uso de un modelo animal para evaluar la ingestión crónica de edulcorantes hipocalóricos: Mediciones de colesterol, triglicéridos y glucosa en suero sanguíneo. Tesis de Química de Alimentos. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Diciembre 04, 2019. Ciudad de México, México. 132.248.9.195/ptd2019/noviembre/0798094/Index.html
- Walker, D.G., Parry, M.J. 1966. Glucokinase. En *Methods in Enzymology*. Wood, W.A., ed. Academic Press. Vol. 9, pp. 381-388. Nueva York, EE. UU.
- Walpole, R.E., Myers, R.H., Myers, S.L., Ye, K. 2012. Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias. 9ª edición, Pearson Education. Capítulo 13, pp. 507-559. Ciudad de México, México. https://verenciafunez94hotmail.files.wordpress.com/2014/08/8va-probabilidad-y-estadistica-para-ingenier-walpole_8.pdf
- Yip, R.G., Wolfe, M.M. 1999. Minireview. GIP biology and fat metabolism. *Life Sciences*. 66(2): 91-103. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(99\)00314-8](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(99)00314-8)
- Zazueta, A.R. 2007. Polipéptido insulínico dependiente de glucosa y péptido semejante al glucagón tipo 1: Acciones fisiológicas e implicaciones en la diabetes tipo 2 y la obesidad. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 15(3):156-164.

Referencias de los textos citados de Basson, A.R., Rodríguez-Palacios, A., Cominelli, F. 2021. Artificial Sweeteners: History and New Concepts on Inflammation. *Front. Nutr.* 8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.746247>

- Rodríguez-Palacios A, Harding A, Menghini P, Himmelman C, Retuerto M, Nickerson KP, et al. The artificial sweetener splenda promotes gut proteobacteria, dysbiosis, and myeloperoxidase reactivity in Crohn's disease-like ileitis. *Inflamm Bowel Dis*. (2018) 24:1005–20. doi: 10.1093/ibd/izy060 [PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
- Farid A, Hesham M, El-Dewak M, Amin A. The hidden hazardous effects of stevia and sucralose consumption in male and female albino mice in comparison to sucrose. *Saudi Pharm J*. (2020) 28:1290–300. doi: 10.1016/j.jsps.2020.08.019 [PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
- Bian X, Tu P, Chi L, Gao B, Ru H, Lu K. Saccharin induced liver inflammation in mice by altering the gut microbiota and its metabolic functions. *Food Chem Toxicol*. (2017) 107:530–9. doi: 10.1016/j.fct.2017.04.045 [PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
- Bian X, Chi L, Gao B, Tu P, Ru H, Lu K. Gut microbiome response to sucralose and its potential role in inducing liver inflammation in mice. *Front Physiol*. (2017) 8:487. doi: 10.3389/fphys.2017.00487 [PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
- Sunderhauf A, Pagel R, Kunstner A, Wagner AE, Rupp J, Ibrahim SM, et al. Saccharin supplementation inhibits bacterial growth and reduces experimental colitis in mice. *Nutrients*. (2020) 12:1122. doi: 10.3390/nu12041122 [PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
- Magnuson BA, Carakostas MC, Moore NH, Poulos SP, Renwick AG. Biological fate of low-calorie sweeteners. *Nutr Rev*. (2016) 74:670–89. doi: 10.1093/nutrit/nuw032 [PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
- Omrán A, Ahearn G, Bowers D, Swenson J, Coughlin C. Metabolic effects of sucralose on environmental bacteria. *J Toxicol*. (2013) 2013:372986. doi: 10.1155/2013/372986 [PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
- Roberts A, Renwick AG, Sims J, Snodin DJ. Sucralose metabolism and pharmacokinetics in man. *Food Chem Toxicol*. (2000) 38(Suppl. 2):S31–41. doi: 10.1016/S0278-6915(00)00026-0 [PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
- Uebanso T, Ohnishi A, Kitayama R, Yoshimoto A, Nakahashi M, Shimohata T, et al. Effects of low-dose non-caloric sweetener consumption on gut microbiota in mice. *Nutrients*. (2017) 9:560. doi: 10.3390/nu9060662 [PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)

¹⁵ *Weight*, peso en español, es incorrecta ya que el peso es una fuerza que se mide en Newtons. Debería usarse la palabra masa, *mass* en inglés [Nota de los(as) editores(as)]

-
54. Hill AB. The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med.* (1965) 58:295–300. doi: 10.1177/003591576505800503
[CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
55. Schiffman SS, Abou-Donia MB. Sucralose revisited: rebuttal of two papers about Splenda safety. *Regul Toxicol Pharmacol.* (2012) 63:505–8; author reply 509–513. doi: 10.1016/j.yrtph.2012.05.002
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
56. Abou-Donia MB, El-Masry EM, Abdel-Rahman AA, McLendon RE, Schiffman SS. Splenda alters gut microflora and increases intestinal p-glycoprotein and cytochrome p-450 in male rats. *J Toxicol Environ Health A.* (2008) 71:1415–29. doi: 10.1080/15287390802328630
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
57. Wang X, Guo J, Liu Y, Yu H, Qin X. Sucralose increased susceptibility to colitis in rats. *Inflamm Bowel Dis.* (2019) 25:e3–e4. doi: 10.1093/ibd/izy196
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
58. Young DA, Bowen WH. The influence of sucralose on bacterial metabolism. *J Dent Res.* (1990) 69:1480–4. doi: 10.1177/00220345900690080601
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
59. Labare MP, Alexander M. Microbial cometabolism of sucralose, a chlorinated disaccharide, in environmental samples. *Appl Microbiol Biotechnol.* (1994) 42:173–8. doi: 10.1007/BF00170242
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
60. Qu Y, Li R, Jiang M, Wang X. Sucralose increases antimicrobial resistance and stimulates recovery of *Escherichia coli* mutants. *Curr Microbiol.* (2017) 74:885–8. doi: 10.1007/s00284-017-1255-5
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
61. Splitt SD, Risser DD. The non-metabolizable sucrose analog sucralose is a potent inhibitor of hormogonium differentiation in the filamentous cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. *Arch Microbiol.* (2016) 198:137–47. doi: 10.1007/s00203-015-1171-7
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
62. Omran A, Baker R, Coughlin C. Differential bacteriostatic effects of sucralose on various species of environmental bacteria. *ISRN Toxicol.* (2013) 2013:415070. doi: 10.1155/2013/415070
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
63. Nürnberg DJ, Mariscal V, Bornikoe J, Nieves-Morión M, Krauß N, Herrero A, et al. Intercellular diffusion of a fluorescent sucrose analog via the septal junctions in a filamentous cyanobacterium. *Mbio.* (2015) 6:e02109. doi: 10.1128/mBio.02109-14
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
64. Capuron L, Geisler S, Kurz K, Leblhuber F, Sperner-Unterwieser B, Fuchs D. Activated immune system and inflammation in healthy ageing: relevance for tryptophan and neopterin metabolism. *Curr Pharm Des.* (2014) 20:6048–57. doi: 10.2174/1381612820666140317110217
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
65. Cervenká I, Agudelo LZ, Ruas JL. Kynurenines: Tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health. *Science.* (2017) 357:aaf9794. doi: 10.1126/science.aaf9794
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
66. Baumgartner R, Forteza MJ, Ketelhuth DFJ. The interplay between cytokines and the Kynurenine pathway in inflammation and atherosclerosis. *Cytokine.* (2019) 122:154148. doi: 10.1016/j.cyt.2017.09.004
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
67. Keszthelyi D, Troost FJ, Masclee AA. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. *Neurogastroenterol Motil.* (2009) 21:1239–49. doi: 10.1111/j.1365-2982.2009.01370.x
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
68. Beloborodova N, Bairamov I, Olenin A, Shubina V, Teplova V, Fedotcheva N. Effect of phenolic acids of microbial origin on production of reactive oxygen species in mitochondria and neutrophils. *J Biomed Sci.* (2012) 19:89. doi: 10.1186/1423-0127-19-89
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
69. Sanchez-Tapia M, Miller AW, Granados-Portillo O, Tovar AR, Torres N. The development of metabolic endotoxemia is dependent on the type of sweetener and the presence of saturated fat in the diet. *Gut Microbes.* (2020) 12:1801301. doi: 10.1080/19490976.2020.1801301
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
70. Li R, Zheng J, Jiang M, Liu Y, Qin X, Wang X. Increased digestive proteases and decreased beta-glucuronidase in feces of rats treated with sucralose and saccharin-another critical evidence that these dietary chemicals may be important causative factors for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* (2016) 22:E29–30. doi: 10.1097/MIB.0000000000000859
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
71. Braissant O, Fougère F, Scotto C, Dauca M, Wahli W. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR- α , - β , and - γ in the adult rat. *Endocrinology.* (1996) 137:354–66. doi: 10.1210/endo.137.1.8536636
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
72. van Raalte DH, Li M, Pritchard PH, Wasan KM. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- α : a pharmacological target with a promising future. *Pharm Res.* (2004) 21:1531–8. doi: 10.1023/B:PHAM.0000041444.06122.8d
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
73. Yoon M. The role of PPAR α in lipid metabolism and obesity: focusing on the effects of estrogen on PPAR α actions. *Pharmacol Res.* (2009) 60:151–9. doi: 10.1016/j.phrs.2009.02.004
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
74. Chapple IL. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol.* (1997) 24:287–96. doi: 10.1111/j.1600-051X.1997.tb00760.x
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
75. Jobin C, Hellerbrand C, Licato LL, Brenner DA, Sartor RB. Mediation by NF- κ B of cytokine induced expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) in an intestinal epithelial cell line, a process blocked by proteasome inhibitors. *Gut.* (1998) 42:779–87. doi: 10.1136/gut.42.6.779
[PubMed Abstract](#) | [CrossRef Full Text](#) | [Google Scholar](#)
-