



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

MAESTRÍA EN BIOCENCIAS

**“ESTUDIO DEL CONSUMO CRÓNICO DE XILITOL Y
FRUTO DEL MONJE SOBRE LA MORFOLOGÍA DEL
INTESTINO DE RATONES C57BL/6”**

T E S I S

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MAESTRA EN BIOCENCIAS**

PRESENTA:

L. N. VANESSA BÁEZ GUTIÉRREZ

DIRECTOR:

DR. CÉSAR OZUNA LÓPEZ

CO-DIRECTORA:

DRA. ELENA FRANCO ROBLES

IRAPUATO, GTO. A AGOSTO 2024



«2024, Año de Felipe Carrillo Puerto, Benemérito del Proletariado, Revolucionario y Defensor del Mayab.»
«2024, 200 años de Grandeza: Guanajuato como Entidad Federativa, Libre y Soberana.»
«2024, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato.»
«30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad»

DIVISION DE CIENCIAS DE LA VIDA

DIRECCION.

Oficio: DICIVA/0409/2024.

Asunto: Autorización de Titulación.

C.

VANESSA BÁEZ GUTIÉRREZ,
MAESTRIA EN BIOCIENCIAS,
P R E S E N T E.

Por medio de la presente y una vez revisado que ha cumplido íntegramente el plan de estudios del Programa Académico y, con base en el Artículo 79 del Reglamento Académico de la Normatividad de la Universidad de Guanajuato Vigente, me permito indicarle que doy mi autorización para que se titule por *Trabajo de Tesis*.

Sin otro asunto y enviándole un cordial saludo, se despide.

A T E N T A M E N T E
“LA VERDAD OS HARA LIBRES”
Irapuato, Gto., 8 de Agosto de 2024.
EL DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA


DR. ROGELIO COSTILLA SALAZAR.



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
División de Ciencias de la Vida
Ex-Hacienda el Copal Irapuato, Gto.
- DIRECCIÓN -

C.c.p. Archivo.
RCS/mcla.

CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

Ex Hacienda El Copal, Km 9 Carretera Irapuato-Silao:
C.P.36824 A.P. 311, Irapuato, Gto., México.
Tel. y Fax: 462 624 18 89.

UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO



«2024, Año de Felipe Carrillo Puerto, Benemérito del Proletariado, Revolucionario y Defensor del Mayab.»
«2024, 200 años de Grandeza: Guanajuato como Entidad Federativa, Libre y Soberana.»
«2024, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato.»
«30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad»

DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

DIRECCIÓN

Oficio: DICIVA/0344/2024.

Asunto: TEMA DE TRABAJO.

C.

DR. ROGELIO COSTILLA SALAZAR,
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA,
P R E S E N T E.

En relación al trabajo de titulación de la C. Vanessa Báez Gutiérrez, me permito comunicar a Usted que el tema señalado fue:

“Estudio del consumo crónico de xilitol y fruto del monje sobre la morfología del intestino de ratones C57BL/6”

Y que dicho trabajo ha sido totalmente elaborado y cuenta con mi aprobación.

Asimismo, me permito proponer a:

**DR. JOSÉ SERGIO LÓPEZ BRIONES
DR. GUSTAVO HERNÁNDEZ GUZMÁN**

Para que junto conmigo integren el Jurado.

A T E N T A M E N T E
“LA VERDAD OS HARA LIBRES”
Irapuato, Gto., 01 de Julio de 2024
DIRECTOR DE TESIS

DR. CÉSAR OZUNA LÓPEZ

**CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA**

Ex Hacienda El Copal, Km 9 Carretera Irapuato-Silao:
C.P.36824 A.P. 311, Irapuato, Gto., México.
Tel. y Fax: 462 624 18 89.

www.irapuatosalamanca.ugto.mx



«2024, Año de Felipe Carrillo Puerto, Benemérito del Proletariado, Revolucionario y Defensor del Mayab.»
«2024, 200 años de Grandeza: Guanajuato como Entidad Federativa, Libre y Soberana.»
«2024, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato.»
«30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad»

DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

DIRECCIÓN

Oficio: DICIVA/0345/2024.

Asunto: REVISIÓN DE TESIS.

Irapuato, Gto., 3 de Julio de 2024.

C.

DR. ROGELIO COSTILLA SALAZAR
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA,
P R E S E N T E.

Habiendo revisado la Tesis de la Pasante C. Vanessa Báez Gutiérrez,

Titulada:

“Estudio del consumo crónico de xilitol y fruto del monje sobre la morfología del intestino de ratones C57BL/6”

Damos nuestra aprobación para la impresión de la misma.

SINODAL

DR. CÉSAR OZUNA LÓPEZ

SINODAL

DR. JOSÉ SERGIO LÓPEZ BRIONES

DR. GUSTAVO HERNÁNDEZ GUZMÁN

CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

Ex Hacienda El Copal, Km 9 Carretera Irapuato-Silao:
C.P.36824 A.P. 311, Irapuato, Gto., México.
Tel. y Fax: 462 624 18 89.

www.irapuatosalamanca.ugto.mx



«2024, Año de Felipe Carrillo Puerto, Benemérito del Proletariado, Revolucionario y Defensor del Mayab.»

«2024, 200 años de Grandeza: Guanajuato como Entidad Federativa, Libre y Soberana.»

«2024, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato.»

«30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad»

DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

C.

DR. ROGELIO COSTILLA SALAZAR,
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA,
P R E S E N T E.

En relación con el trabajo de titulación de la C. Vanessa Báez Gutiérrez nos permitimos comunicar a usted que el trabajo de tesis: "Estudio con consumo crónico de xilitol y fruto del monje sobre la morfología del intestino de ratones C57BL/6", que fue desarrollado bajo la dirección del Dr. César Ozuna López y la co-dirección de la Dra. Elena Franco Robles, ambos profesores de la División de Ciencias de la Vida, ha sido terminado. El escrito fue revisado por el Dr. José Sergio López Briones, y el Dr. Gustavo Hernández Guzmán y se autorizó la impresión y empastado del mismo.

Así mismo, nos permitimos proponer para la integración del jurado a los doctores

DR. JOSÉ SERGIO LÓPEZ BRIONES	PRESIDENTE
DR. GUSTAVO HERNÁNDEZ GUZMÁN	SECRETARIO
DR. CÉSAR OZUNA LÓPEZ	VOCAL

A T E N T A M E N T E
"LA VERDAD OS HARA LIBRES"
Irapuato, Gto., 5 de Julio de 2024
DIRECTOR

REVISOR

DR. CÉSAR OZUNA LÓPEZ

REVISOR

DR. JOSÉ SERGIO LÓPEZ BRIONES

DR. GUSTAVO HERNÁNDEZ GUZMÁN

CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

Ex Hacienda El Copal, Km 9 Carretera Irapuato-Silao:
C.P.36824 A.P. 311, Irapuato, Gto., México.
Tel. y Fax: 462 624 18 89.

www.irapuatosalamanca.ugto.mx

AGRADECIMIENTOS

El proceso de formación de un investigador es de arduo trabajo, pasión, constancia y dedicación. Pero sin duda, es una labor muy bonita que contribuye al desarrollo en nuestra sociedad y un área de oportunidad para brindar una comprensión de nuestro entorno.

Es por ello, que en esta etapa de mi proceso de formación agradezco el apoyo incondicional de todos aquellos que han sido una parte integral de mi desarrollo académico y personal. Gracias por ser mi red de apoyo y brindarme día a día las ganas de seguir aprendiendo y mejorando. En especial, reitero mi agradecimiento y la dedicación de mi tesis a mis asesores (por su pasión por la enseñanza y por guiarme en todo momento), a mi familia y mi pareja (por sus palabras de aliento y su apoyo incondicional), a mis amigos (por su apoyo, el conocimiento y los instantes compartidos).

Adicionalmente, externo mis más sinceros agradecimientos a las instancias involucradas en este proyecto. Especialmente al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), la Dirección de Apoyo a la Investigación y al Posgrado (DAIP) y a la División de Ciencias de la Vida, por brindarme el apoyo para dar seguimiento a este proyecto.

Finalmente, agradezco al equipo de trabajo que conforma la Universidad de Guanajuato, especialmente a todo el personal académico y administrativo que contribuyo a mi formación como Maestra en Biociencias.

A todos y cada uno de ustedes, infinitamente ¡gracias por ser mi red de apoyo e inspirarme en seguir aprendiendo y compartir lo aprendido!

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la ingesta crónica de xilitol (edulcorante artificial) y fruto del monje (edulcorante natural) sobre la morfología y la expresión de proteínas de unión de la barrera intestinal (occludina) de ratones C57BL/6. Se utilizaron 20 ratones hembra y 20 ratones macho, los cuales se distribuyeron por sexo en cuatro grupos (n=5): extracto del fruto del monje 3 % (MF), xilitol 2 % (X), jarabe de maíz de alta fructosa 10 % (CP: control positivo) y agua (CN: control negativo) cada edulcorante se diluyó en el agua de la bebida. Durante el periodo de consumo (3 meses) se evaluó la ingesta (bebida y alimento) y la ganancia de peso. Posteriormente, los ratones fueron sacrificados para realizar un análisis histopatológico del intestino delgado con H&E para determinar cambios en la morfología con la técnica de inmunohistoquímica para determinar la expresión de occludina (EO). Los datos experimentales se analizaron mediante un ANOVA de dos vías y un análisis post-hoc de Tukey ($p=0,05$). Como resultados, el grupo MF obtuvo una ingesta mayor de bebida ($p=0,00$) en comparación con los controles CP (~ 7.85 mL/grupo/día) y CN (~ 27.92 mL/grupo/día) y el X (~ 19.88 mL/grupo/día) esto se reflejó en la ganancia de peso ($p=0,00$) para los grupos (CP y MF) en comparación con el X. El cual fue la mejor opción para el control del mecanismo de la saciedad. Por otro lado, MF, X y CP indujeron cambios ($p<0,05$) en la morfología intestinal y, en consecuencia, en el EO. Sin embargo, el MF presentó una mayor EO ($p<0,05$) en comparación con CN a nivel de membrana. Por lo tanto, para el control de peso el X es una opción más viable para su consumo, en comparación con el CP y MF debido a sus componentes. Sin embargo, entre ellos (CP y MF) el segundo presenta menor riesgo de alteración en la permeabilidad de la barrera intestinal.

Palabras clave: *Edulcorantes, Mecanismo de Saciedad, Histopatología, Permeabilidad intestinal.*

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of chronic intake of xylitol (artificial sweetener) and monk fruit (natural sweetener) on the morphology and expression of intestinal barrier binding proteins (occludin) of C57BL/6 mice. Twenty female and 20 male mice were used, which were distributed by sex into four groups (n=5): 3 % monk fruit extract (MF), 2 % xylitol (X), 10 % high fructose corn syrup (CP: positive control) and water (CN: negative control). Each sweetener was diluted in the drinking water. During the consumption period (3 months), intake (drink and food) and weight gain were evaluated. Subsequently, the mice were sacrificed to perform a histopathological analysis of the small intestine with H&E to determine changes in morphology with the immunohistochemistry technique to determine the expression of occludin (EO). The experimental data were analyzed by a two-way ANOVA and a Tukey post-hoc analysis ($p = 0.05$). As a result, the MF group obtained a higher drink intake ($p = 0.00$) compared to the CP (~ 7.85 mL/group/day) and CN (~ 27.92 mL/group/day) and X (~ 19.88 mL/group/day) controls. This was reflected in the weight gain ($p = 0.00$) for the groups (CP and MF) compared to X. Which was the best option for the control of the satiety mechanism. On the other hand, MF, X and CP induced changes ($p < 0.05$) in the intestinal morphology and, consequently, in the EO. However, the MF presented a higher EO ($p < 0.05$) compared to CN at the membrane level. Therefore, for weight control, X is a more viable option for consumption, compared to CP and MF due to its components. However, between them (CP and MF), the second presents a lower risk of alteration in the permeability of the intestinal barrier.

Keywords: *Sweeteners, Satiety mechanism, Histopathology, Intestinal permeability.*

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	9
2. MARCO TEÓRICO	10
2.1. Panorama de la ingesta de jarabe de maíz alto en fructosa y edulcorantes en México	10
2.2. Metabolismo del jarabe de maíz alto en fructosa y su impacto en la salud	10
2.3. Características de los edulcorantes.....	12
2.4. Metabolismo de los edulcorantes	19
2.4.1. Xilitol	19
2.4.2. Metabolismo del xilitol y su efecto en el mecanismo de la saciedad	20
2.5. Extracto del fruto del monje	21
2.6. Función de la barrera intestinal	22
2.6.1. Permeabilidad intestinal asociada a la ingesta de edulcorantes	24
2.7. Uso de modelos murinos para ensayos <i>in vivo</i> de edulcorantes.....	24
3. JUSTIFICACIÓN	26
4. HIPÓTESIS	27
5. OBJETIVO GENERAL	27
6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
7. METODOLOGÍA	28
7.1. Caracterización química de los edulcorantes	28
7.2. Diseño experimental	28
7.3. Grupo de estudio y administración de edulcorantes	29
7.4. Determinación de peso corporal e ingesta de alimento	30
7.5. Necropsias	30
7.6. Disección y preparación de tejido.....	31
7.7. Histología	31
7.8. Hematología.....	35
7.9. Inmunohistoquímica	35
7.10 Análisis estadístico.....	38
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
8.1. Análisis de edulcorantes	39
8.2. Ingesta de bebida.....	40
8.3. Ingesta de alimento.....	42

8.4. Ganancia de peso	43
8.5. Cambios macroscópicos de los órganos	46
8.5.1. Peso de los órganos y longitud del intestino delgado.....	48
8.6. Conteo de leucocitos.....	52
8.7. Histología del intestino	55
8.8. Longitud de las criptas	58
8.9. Longitud y ancho de las vellosidades	59
8.10. Expresión de la ocludina en el intestino delgado	64
8.10.1. Expresión de ocludina en la membrana de los enterocitos	67
8.10.2. Intensidad de la expresión de la ocludina en la membrana del intestino delgado	68
8.10.3. Expresión de ocludina en el citoplasma de los enterocitos del intestino delgado	68
8.10.4. Intensidad de la expresión de ocludina en citoplasma	69
9. CONCLUSIONES	73
10. CONTRIBUCIÓN CIENTÍFICA	74
11. REFERENCIAS	75

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Generalidades de los edulcorantes intensivos	13
Cuadro 2. Aplicaciones y características metabólicas de los edulcorantes intensivos.....	15
Cuadro 3. Impacto de los edulcorantes en la barrera intestinal.....	25
Cuadro 4. Distribución de la ingesta de edulcorantes en modelos murinos	29
Cuadro 5. Proceso de deshidratación y diafanización del tejido	33
Cuadro 6. Protocolo de tinción con Hematoxilina & Eosina	34
Cuadro 7. Proceso de desparafinado	36
Cuadro 8. Contratación.....	38
Cuadro 9. Identificación de la concentración de edulcorantes empleados en el tratamiento..	39
Cuadro 10. Resultados del ANOVA de dos vías para las variables de respuesta ingesta de bebida y alimento y peso.	40
Cuadro 11. Resultados del ANOVA de dos vías para los coeficientes de los órganos.....	49
Cuadro 12. Coeficientes de los pesos de los órganos (%) y la longitud del intestino delgado (mm) asociada al tratamiento.....	50
Cuadro 13. Coeficientes de los pesos de los órganos (%) y la longitud del intestino delgado (mm) asociada al sexo.....	51
Cuadro 14. Resultados del ANOVA de dos vías para los tipos de leucocitos y las principales interacciones dadas por el sexo y la ingesta de edulcorantes.....	52
Cuadro 15. Diferencias en los tipos de leucocitos y la interacción dada por el tratamiento.....	54
Cuadro 16. Diferencias en los tipos de leucocitos dada por el sexo.....	55
Cuadro 17. Diferencias en las vellosidades y las criptas de la barrera intestinal dada por la interacción del tratamiento con los edulcorantes y el sexo de los ratones C57BL/6.....	56
Cuadro 18. Resultados del ANOVA de dos vías para la expresión de ocludina y las principales interacciones dadas por el sexo y los tratamientos	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Metabolismo de la fructosa	11
Figura 2. Mecanismo de saciedad del xilitol.....	21
Figura 3. Estructura de la barrera intestinal.	23
Figura 4. Esquema de la determinación de componentes de los edulcorantes mediante espectrometría de masas.	28
Figura 5. Esquema de evaluación de las variables consumo de alimento y bebida, así como de la ganancia de peso, durante los 3 meses con los diferentes tratamientos en ratones C57BL/6 (macho y hembra).....	30
Figura 6. Diagrama de la técnica de histopatología en intestino delgado de ratones C57B/6.....	32
Figura 7. Esquema de la técnica para realizar los frotis sanguíneos y el conteo de leucocitos utilizando la microscopia convencional y una aplicación de conteo en las muestras de sangre de ratones C57BL/6.....	35
Figura 8. Esquema de la determinación de proteínas de unión (occludinas) mediante la técnica de inmunohistoquímica.....	36
Figura 9. Efecto de la ingesta de edulcorantes sobre la ingesta de la bebida (I.B.) en ratones C57BL/6.	41
Figura 10. Efecto del sexo sobre la ingesta de la bebida (I.B.) en ratones C57BL/6.	41
Figura 11. Efecto de la ingesta de edulcorantes sobre el consumo de alimento (I.A) en ratones C57BL/6.	42
Figura 12. Efecto del sexo sobre la ingesta de alimento (I.A.) en ratones C57BL/6.	43
Figura 13. Efecto de la ingesta de edulcorantes sobre la ganancia de peso (G.P.) en ratones C57BL/6.	44
Figura 14. Efecto del sexo sobre la ganancia de peso (G.P.) en ratones C57BL/6.	44
Figura 15. Identificación de cambios físicos en la apariencia de los órganos de los ratones (macho y hembra) C57BL/6 al término del tratamiento.....	47
Figura 16. Micrografía de leucocitos presentes en los frotis sanguíneos. de ratones C57BL/6 con la tinción de Wright.	53
Figura 17. Micrografía de histología intestinal con tinción de H&E en ratonas hembra C57BL/6.....	57
Figura 18. Micrografía de histología intestinal con tinción de H&E en ratones macho C57BL/6.....	57

Figura 19. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre la longitud de las criptas (L.C.) en ratones C57BL/6.....	58
Figura 20. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre lo ancho de las vellosidades (A.V.) en ratones C57BL/6.....	60
Figura 21. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre la longitud de las vellosidades (L.V.) en ratones C57BL/6.....	60
Figura 22. Efecto del sexo sobre la longitud de las vellosidades (L.V.) en ratones C57BL/6.....	61
Figura 23. Metabolismo y mecanismo de la saciedad de la fructosa y extracto del fruto del monje.....	62
Figura 24. Micrografía de intestino con la técnica de inmunohistoquímica.....	64
Figura 25. Micrografía de inmunohistoquímica en el intestino delgado de ratones macho C57BL/6.....	65
Figura 26. Micrografía de inmunohistoquímica en el intestino delgado de ratones hembra C57BL/6.....	65
Figura 27. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre la expresión de ocludina en la membrana de los enterocitos de los ratones C57BL/6.....	67
Figura 28. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre la intensidad de la expresión de ocludina en la membrana de los ratones C57BL/6.....	68
Figura 29. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre la expresión de ocludina en citoplasma de los enterocitos de ratones C57BL/6.....	69
Figura 30. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre la intensidad de ocludina en citoplasma de los enterocitos de los ratones C57BL/6.....	70
Figura 31. Efecto del sexo sobre la intensidad de ocludina en citoplasma de enterocitos de los ratones C57BL/6.....	70

1. INTRODUCCIÓN

La ingesta de jarabe de maíz alto en fructosa (JMAF) ha aumentado notablemente en las últimas décadas, esto es preocupante debido a que su consumo está asociado con la prevalencia de enfermedades crónico-degenerativas y alteraciones a nivel gastrointestinal. Por lo cual, se ha optado por alternativas como los sustitutos de sacarosa, conocidos como edulcorantes, debido a su bajo aporte calórico (Bueno-Hernández et al., 2019; Jung et al., 2022).

Los edulcorantes son sustancias naturales o artificiales considerados seguros siempre y cuando no rebasen su ingesta diaria admisible (IDA) o no se haya reportado algún caso asociado a efectos secundarios posteriores a su ingesta (Laviada-Molina et al., 2017; Ruiz-Ojeda et al., 2019). Por lo que, en este estudio después de analizar la amplia variedad de edulcorantes se ha optado por utilizar aquellos que son novedosos y se requiere de más información para contribuir a su estado del arte tales como el xilitol (edulcorante artificial) y el extracto del fruto del monje (edulcorante natural).

El presente estudio permitió investigar los mecanismos de saciedad del xilitol y extracto del fruto del monje, comparándolos con el jarabe de maíz alto en fructosa, considerando las variables ganancia de peso e ingesta de alimento y bebida. Además, se analizó el impacto de su consumo en la morfología intestinal para conocer el estado de la barrera intestinal.

Debido a que la barrera intestinal es un componente crucial para nuestra salud, porque permite el equilibrio inmunológico de nuestro organismo y se correlaciona con cambios fisiológicos a nivel del eje intestino-cerebro-hígado (Chelakkot et al., 2018). El objetivo del presente estudio es evaluar el efecto de la ingesta crónica de xilitol (edulcorante artificial) y fruto del monje (edulcorante natural) sobre la morfología intestinal y la expresión de proteínas de unión de la barrera intestinal de ratones C57BL/6.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Panorama de la ingesta de jarabe de maíz alto en fructosa y edulcorantes en México

En México de acuerdo con el informe del 2023 de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2022 (ENSANUT), se reportó que las niñas presentan mayor prevalencia de sobrepeso que los niños (21.9 % vs 20.1 %) pero en la categoría de obesidad, los niños tienen mayor riesgo que las niñas (25.5% vs 12.3 %). Esto es un indicador alarmante, debido a que los porcentajes de diagnóstico de sobrepeso y obesidad en los diferentes grupos de edad siguen aumentando (ENSANUT, 2022). Aunado a ello, los índices de ingesta habitual de alimentos ultraprocesados predominan en la dieta en los diferentes grupos, lo cual, es un indicador de riesgo asociado a comorbilidades por la ingesta de grasas saturadas y jarabe de maíz alto en fructosa (ENSANUT, continua 2023).

Esta problemática es un reflejo del panorama de los patrones de consumo habitual que prevalece en nuestra población mexicana, principalmente con la sacarosa y JMAF. Aunado a ello, de acuerdo con el informe del 2024 de Mordor Intelligence se observó que en el 2023 el continente americano fue el que obtuvo la mayor cuota de mercado con respecto a la producción y el uso del JMAF (Mordor Intelligence, 2024). Esto se debe principalmente al incremento de la disponibilidad de alimentos ultra procesados y al bajo costo de este sustituto de azúcar en comparación con otros productos similares (Bueno-Hernández et al., 2019).

2.2. Metabolismo del jarabe de maíz alto en fructosa y su impacto en la salud

Los estudios epidemiológicos y experimentales han indicado una asociación entre la ingesta excesiva de fructosa y el riesgo de desarrollar diferentes tipos de enfermedades: metabólicas, inflamatorias, neurodegenerativas y algunos tipos de cáncer (Jung et al., 2022; J.-M. Li et al., 2019).

Dentro de ese grupo de patologías nos enfocaremos en la enfermedad inflamatoria por consumo excesivo de fructosa, debido a que es crucial en el desarrollo de otras complicaciones. El proceso inflamatorio se desencadena en el epitelio del

intestino delgado, donde es transportada por GLUT5 y fosforilada por la cetohecoquinasa para formar fructosa 1-fosfato, se acumula a altos niveles en la célula (Fig. 1). Si bien, esta vía está implicada en la obesidad y la promoción de tumores, el mecanismo exacto que impulsa estas patologías en el intestino sigue sin estar claro (Taylor et al., 2021).

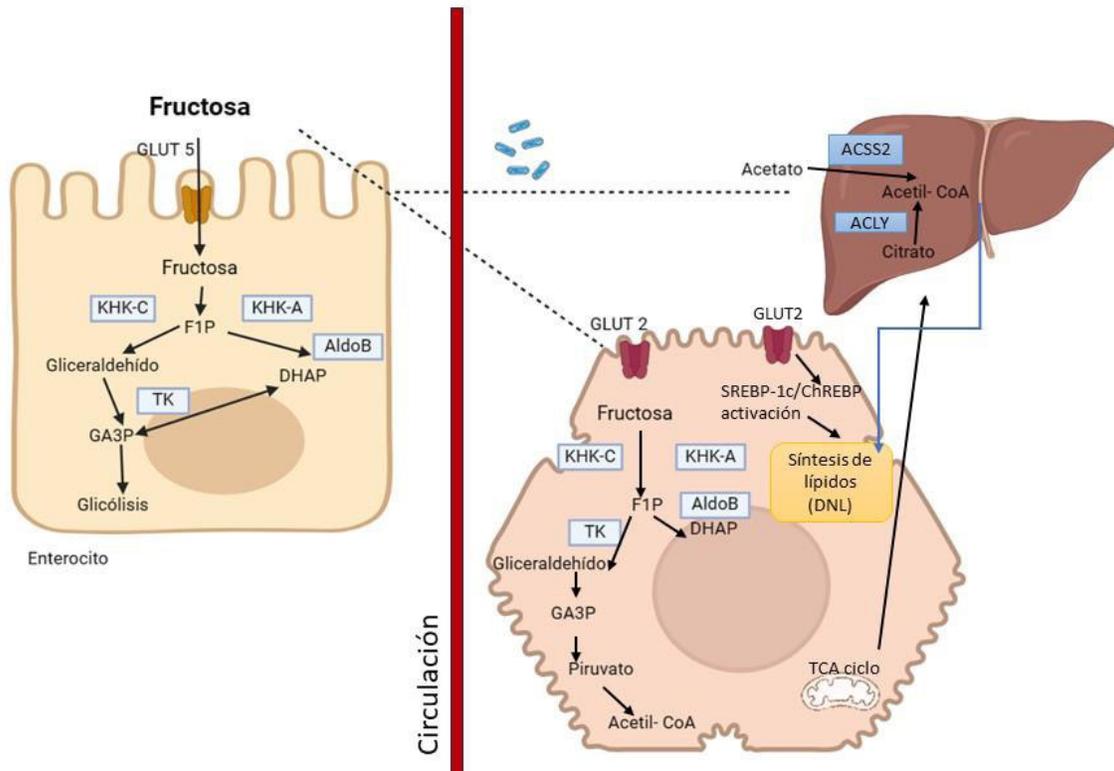


Figura 1. Metabolismo de la fructosa. La fructosa es absorbida por GLUT5 o GLUT2 en enterocitos o hepatocitos. Posteriormente, la fructosa es fosforilada por KHK-C/A en F1P. En el hígado, parte del citrato se convierte en acetil-CoA citosólico a través de la enzima ACLY. Creado con BioRender.com.

Por otro lado, estudios recientes han identificado que fructosa dietética promueve la supervivencia de las células intestinales y aumenta la longitud de las vellosidades en múltiples modelos murinos. Este incremento expande la superficie intestinal, la absorción de nutrientes y la adiposidad en ratones alimentados con una dieta alta en fructosa (Taylor et al., 2021). En las células intestinales hipóxicas, la fructosa 1-fosfato inhibe la isoforma M2 de la piruvato quinasa para promover la supervivencia celular. La estimulación de la piruvato quinasa previene la elongación de las vellosidades y suprime

la absorción de nutrientes y el crecimiento tumoral promovidos por el JMAF (Goncalves et al., 2019; Jung et al., 2022).

Por lo tanto, la capacidad de la fructosa para promover la supervivencia celular a través de un metabolito alostérico proporciona información adicional sobre la adiposidad asociada a la dieta occidental y una explicación convincente para el crecimiento tumoral promovido por el JMAF (Goncalves et al., 2019; Taylor et al., 2021). Dado al aumento de enfermedades inflamatorias en la población, y considerando los otros efectos adversos a la ingesta prolongada de JMAF, las personas han optado por la reducción de su ingesta optando por nuevas alternativas que contribuyan a una menor ingesta de calorías. Por lo que, de acuerdo con las tendencias observadas en el mercado y las últimas recomendaciones, se ha implementado el xilitol y el extracto del fruto del monje.

2.3. Características de los edulcorantes

Como se mencionó anteriormente, en la actualidad se utilizan diferentes edulcorantes, estos se definen como aditivos alimentarios o sustitutos de azúcar que brindan un sabor dulce (Ruiz-Ojeda et al., 2019). Dentro de esta gran gama de aditivos, existen los edulcorantes intensivos, los cuales se dividen en edulcorantes naturales y artificiales. Este tipo de edulcorantes son 30 veces más dulces que la sacarosa debido a que presentan una mayor afinidad con la unión de receptores de dulzor T1R2 y T1R3, esta intensidad combinada con un metabolismo incompleto explica su menor aporte calórico (Turner et al., 2020).

Respecto a los edulcorantes artificiales, los cuales suelen ser sintetizados químicamente, destacan la sacarina, aspartame y sucralosa. Por otro lado, los edulcorantes naturales, son los derivados de plantas con un elevado poder edulcorante en comparación con la sacarosa, en este grupo están los glucósidos de esteviol, la taumatina y el extracto del fruto del monje (Luo Han Guo) (Lizuka, 2022). En la Cuadro 1 se detallan de manera general algunas de las características de estos edulcorantes.

Cuadro 1. Generalidades de los edulcorantes intensivos

Nombre del edulcorante	Tipo de edulcorante	Componente químico	IDA (mg/kg/día)	Poder edulcorante relacionado con sacarosa
Fruto del monje	Natural	Extracto de fruta de <i>Siraitia grosvenorii</i>	Sin IDA	250-400x
Glucósidos de esteviol	Natural	Glucósidos de esteviol de <i>Stevia rebaudiana</i>	4	200 - 300x
Taumatina	Natural	Extracto de fruto de <i>Thaumatococcus daniellii</i>	Sin IDA	2,000 - 3,000x
Alitame	Artificial	Ácido aspártico y alanina	1	2000x
Aspartame	Artificial	Ácido aspártico y fenilalanina	40	200x
Ciclamato	Artificial	Ácido ciclohexilsulfámico	7	30-50x
Neohesperidina DC	Artificial	Neohesperidina modificada de cítricos	No aprobada	1000x
Neotamo	Artificial	Dipéptido de fenilalanina y ácido aspártico	2	7,000-13,000x
Sacarina	Artificial	Amida sulfobenzoica o-	5	300x
Sucralosa	Artificial	Sucralosa	5	600x
Xilitol	Artificial	D-Xilosa	5	60-80x

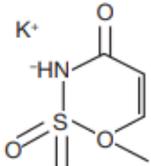
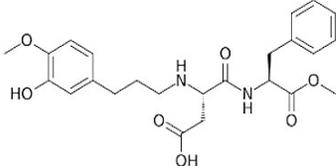
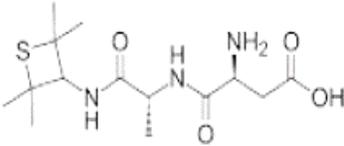
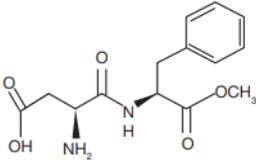
IDA: Ingesta Diaria Admisible. Fuente: Cuadro adaptado de (Laviada-Molina et al., 2017; Ruiz-Ojeda et al., 2019; Stephens Camacho et al., 2018)

Es importante destacar que cada edulcorante posee características fisicoquímicas, IDA y un metabolismo específico, por lo que es incorrecto asumir que las propiedades de uno puedan extrapolarse a otro. Asociado a esto, los edulcorantes intensivos son consumidos no solo por personas con diabetes, sino también por la

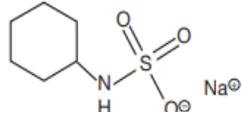
población en general, ya que se utilizan como ingredientes en muchos alimentos reducidos en calorías (refrescos, productos lácteos, productos de confitería, entre otros). Además, se pueden utilizar como edulcorantes de mesa en casa, en cafeterías y en restaurantes (Ruiz-Ojeda et al., 2019).

Algunos estudios han abordado los efectos biológicos como intolerancia a la glucosa y síndrome de intestino irritable, los cuales se pueden producir por un consumo crónico de edulcorantes, entre ellos destacan la sucralosa, la sacarina, el aspartame y el asesulfame K (Sylvetsky et al., 2020) como se puede observar en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Aplicaciones y características metabólicas de los edulcorantes intensivos

Nombre del edulcorante	Estructura	Composición	Metabolismo y excreción	Usos y aplicaciones
Acesulfame K		5,6-dimetil-1, 2, 3-oxatizaina-4 (3H) -ona-2,2 dióxido.	Es absorbido en el intestino delgado y excretado por vía renal sin ser metabolizado.	Refrescos, jugos, energizantes, café, té, dulces, postres y panes.
Advantame		Se obtiene por síntesis química a partir de aspartamo e isovainillina.	Contiene fenilalanina, que se metaboliza con dificultad por personas con fenilcetonuria.	Lácteos, helados, frutas y verduras en conserva, cereales, mermeladas, chicles, panes, dulces, productos de confitería.
Alitame		Dipéptido del ácido aspártico.	Requiere de más estudios para abordar el proceso metabólico.	Frutas en conserva, chicles, productos de decoración para pasteles, néctares de fruta y mayonesa.
Aspartame		Dipéptido de éster metílico de L-fenilalanina y ácido L-aspártico.	Metabolizado por el intestino delgado.	Refrescos, jugos, energizantes, café, tés instantáneos, cereales de caja, goma de mascar, gelatinas, pudines y productos lácteos.

Ciclamato

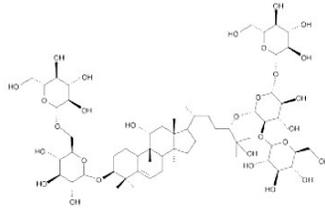


Tienen tres estructuras químicas: ácido ciclámico, ciclamato de sodio y ácido ciclohexilsulfamato

Metabolizado por la microbiota intestinal, se absorben y se excretan sin alterar.

Confitería, refrescos, néctares de fruta, mermelada y sopas.

Fruto del monje

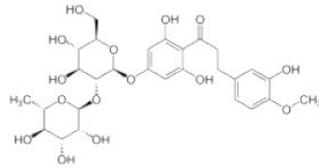


Los glucósidos de cucurbitáneo o mogrosido V son los componentes principales de la fruta *S. grosvenorii*.

Falta indagar sobre su metabolismo completo.

Postres, panes, dulces, chocolates y bebidas lácteas.

Neohesperidina DC

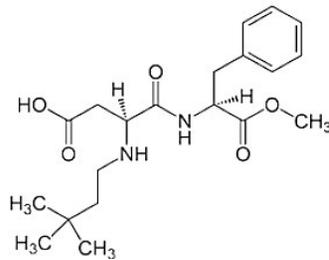


Procede de la piel de los frutos inmaduros de *Citrus aurantium L*

Falta indagar más sobre metabolismo.

Postres, helados, productos lácteos, confitería, refrescos y jugos procesados.

Neotamo

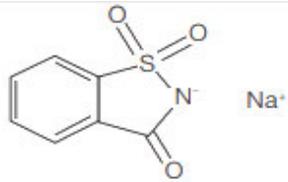


Estructura muy similar al aspartamo, seguro para pacientes con fenilcetonuria y diabetes.

50% no es absorbido y se excreta por las heces, mientras que la otra mitad se excreta en la orina como: neotamo desesterificado.

Lácteos, helados, chocolates, mermeladas y chicles.

Sacarina

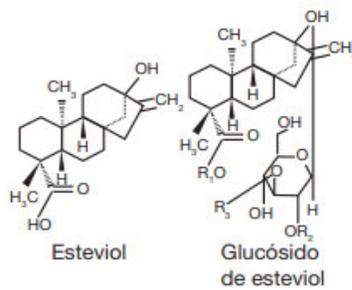


Está conformado por sal sódica del 1,1-dióxido 1,2-benziso-tiazolin-3-ona

Se absorbe por el intestino y se excreta por vía renal.

Refrescos, jugos, energizantes, café y té instantáneos.

Glucósidos de esteviol

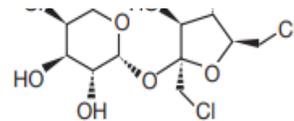


Son moléculas extraídas de las hojas de Stevia rebaudiana Bertoni

Es metabolizado en el hígado formando glucurónico de esteviol, el cual finalmente es excretado por la orina.

Bebidas, panes postres, lácteos y congelados.

Sucralosa

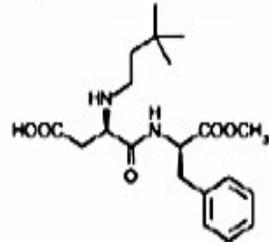


Derivado de la sacarosa, compuesto por un disacárido triclorado con el nombre químico de 1,6-dicloro-1,6-dideoxi-β-Dfructofuranosil-4-cloro-4 deoxi-α-Dgalactopiranosida.

Se absorbe en el tubo digestivo; el 85% se excreta intacto por las heces fecales y el resto, por vía renal.

Refrescos, jugos, energizantes, café, té, goma de mascar, gelatinas y postres lácteos.

Taumatina

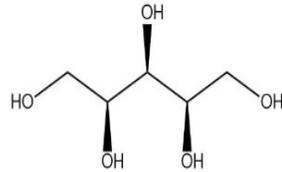


La taumatina es una mezcla de compuestos extraídos de la planta *Thaumatococcus daniellii* Bennett asociado con efectos laxantes.

Falta indagar sobre su metabolismo

Potenciador de sabor en diversos productos.

Xilitol



Poliol de cinco carbonos, obtenido por hidrogenación de D-xilosa.

La parte no absorbible en intestino delgado es fermentada rápidamente por acción de la microbiota produciendo AGCC, CO₂, CH₄ y H₂

Frutas, verduras, hongos, chicles, helados, chocolates, mermeladas, suplementos deportivos, pastas y enjuagues bucales.

Fuente: Cuadro adaptado de (Laviada et al., 2017; Ruiz-Ojeda et al., 2019; Shivani et al., 2021; Stephens Camacho et al., 2018; Xiang et al., 2021a; Younes, Aquilina, Engel, Fowler, Frutos Fernández, Fürst, Gürtler, Gundert-Remy, et al., 2019a)

2.4 Metabolismo de los edulcorantes

Dado que cada edulcorante posee cualidades fisicoquímicas particulares, destaca la necesidad de evaluar su impacto en el mecanismo de la saciedad, ya que se ha identificado que los edulcorantes también activan las señales de los receptores del sabor dulce y umami mediante una familia de tres receptores acoplados a proteínas G: (T1R1, T1R2 y T1R3). Este complejo se expresa en la cavidad oral y en los tejidos extraorales, como el intestino, el colon, el páncreas y el cerebro (Wölnerhanssen et al., 2020).

Por otro lado, se ha identificado que los edulcorantes están involucrados en la modulación del apetito, la homeostasis de la glucosa y la motilidad intestinal (Kim, 2023). Otro de los hallazgos que se han reportado, es que la ingesta de edulcorantes puede modular el tipo de microbiota presente (Turner et al., 2020). Sin embargo, estudiarlo tiene un grado de complejidad por la exposición microbiana y el porcentaje de edulcorantes a lo largo del tracto intestinal, derivado del metabolismo de cada uno. (Di Rienzi & Britton, 2020).

La presente investigación buscó estudiar el impacto del xilitol y el extracto del fruto del monje en el mecanismo de la saciedad y el metabolismo de cada edulcorante en ratones C57BL/6.

2.4.1 Xilitol

El xilitol, es un poliol blanco o transparente, clasificado como un edulcorante artificial que se disuelve fácilmente en agua (Xiang et al., 2021). Es un producto intermediario de metabolismo del carbono en mamíferos y un metabolito normal en el cuerpo. Se encuentra presente de manera natural en frutas y verduras, considerándose estas su principal materia prima para ser producido a nivel en el área de alimentos (Han et al., 2024). En cuanto a su ingesta, el xilitol brinda un aporte calórico de 2.4 calorías/g con un índice glucémico de 13. Respecto a su IDA esta es de 5 mg/kg/día y aunque gran porcentaje es digerido por microorganismo en el colon, contribuyendo al crecimiento de bacterias benéficas para el organismo (Xiang et al., 2021).

Se ha identificado que si se rebasa la IDA suele presentarse una serie de malestares gastrointestinales, tales como diarrea, flatulencias, distensión y malestar abdominal (Ruiz-Ojeda et al., 2019). Cabe destacar que con una ingesta moderada dentro de la IDA el xilitol funciona como una buena alternativa para sustituir la sacarosa, debido a que brinda beneficios a la salud bucal, el control del peso y la glucosa (Wölnerhanssen et al., 2016, 2020).

2.4.2 Metabolismo del xilitol y su efecto en el mecanismo de la saciedad

El xilitol es absorbido por el intestino delgado y 50% es metabolizado por el hígado. El resto se metaboliza por las bacterias intestinales *Anaerostipes hadrus* y *Anaerostipes caccae* para ser transformado en otros compuestos como ribosa y ácido succínico, los cuales pueden ser usado por las células (Xiang et al., 2021a). Se ha reportado que el xilitol tiene un impacto de manera favorable en el mecanismo de la saciedad, (Fig. 2) retardando el vaciamiento gástrico y aumentando la secreción de colecistoquininas (CCK) y GLP-1 (Bordier et al., 2022). Además, la parte no absorbible en el intestino delgado llega intacta al colon para ser fermentado por acción de la microbiota, produciendo ácidos grasos de cadena corta, CO₂, CH₄ y H₂ (Bordier et al., 2021; Wölnerhanssen et al., 2016, 2020).

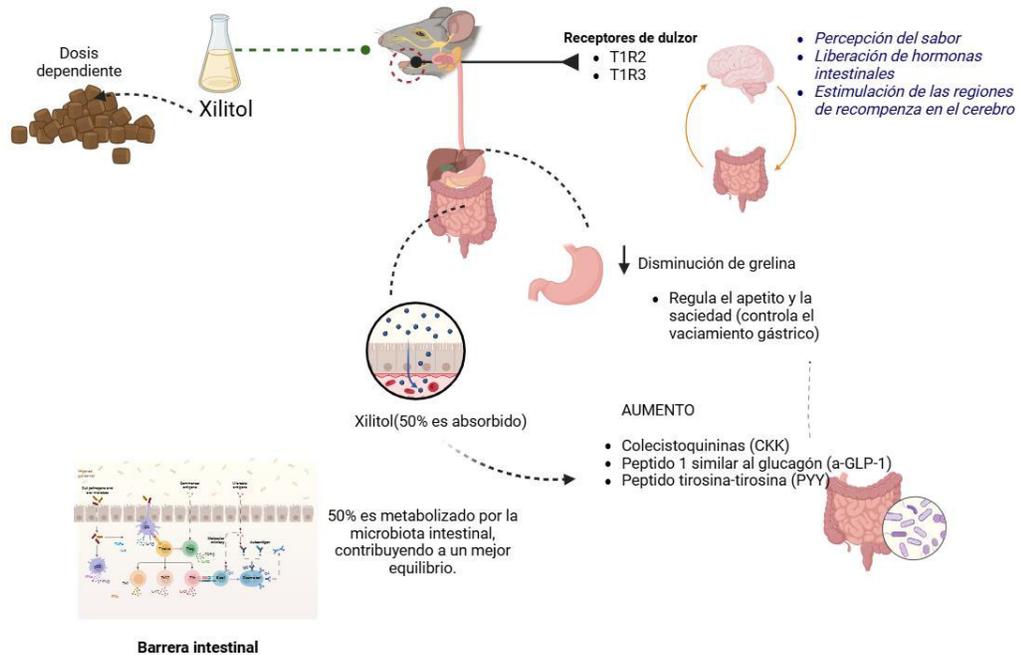


Figura 2. Mecanismo de saciedad del xilitol. Su consumo conduce a la estimulación de la liberación de hormonas intestinales (CCK y GLP-1) y contribuye a generar un efecto desacelerador sobre el vaciamiento gástrico. Creado con BioRender.com.

2.5 Extracto del fruto del monje

El extracto del fruto del monje es un edulcorante natural, utilizado en la industria alimentaria y farmacéutica. Este edulcorante proviene del proceso de extracción de la fruta del monje (Ban et al., 2020), científicamente llamada *Siraitia grosvenorii* y conocida localmente como luo han guo o lo han kuo. Es reconocida por su dulzura natural y sus beneficios para la salud (Chen et al., 2024).

El dulzor de este edulcorante se atribuye principalmente a un grupo de compuestos naturales conocidos como mogrósidos, entre los cuales el mogrósido V es el más abundante (Chen et al., 2024). Estos mogrósidos pertenecen al grupo triterpenoide de sustancias químicas presentes en un 0.55 - 0.65 % en la fruta fresca y alrededor de un 2.5 % en la fruta seca (Shivani et al., 2021; Younes et al., 2019).

En los últimos años, la fruta del monje ha ganado atención como edulcorante natural y sustituto del azúcar, debido al interés impulsado por el movimiento global hacia preferencias dietéticas más saludables y la necesidad urgente de opciones de edulcorantes ambientalmente sostenibles (Chen et al., 2024). Actualmente, su consumo es de mayor prevalencia en China y Europa, donde es utilizado para la elaboración de bebidas y productos de confitería (Younes et al., 2019).

Dentro de las propiedades que le confieren al fruto del monje se destacan el cuidado de la salud metabólica, los controles de glucemia y ganancia de peso, así como la protección hepática (Mahinder et al., 2022). Sin embargo, cabe destacar que, para considerar tal efecto, es importante revisar el porcentaje de mogrósidos que se reportan, ya sus concentraciones pueden variar según el proceso de fabricación sobre todo tras la decoloración y la purificación. Debido a la falta de estudios que aborden su efecto metabólico y daño citotóxico, aún no se cuenta con una IDA (Younes et al., 2019). Por lo tanto, es esencial realizar más investigaciones científicas para desentrañar los mecanismos exactos y aplicar estos conocimientos para mejorar la salud y el bienestar humanos de manera efectiva (Chen et al., 2024).

Dado que aún hace falta conocer las implicaciones de la ingesta crónica de diferentes edulcorantes y su impacto a nivel del intestino; en este estudio se buscó analizar las alteraciones entre la ingesta crónica de edulcorantes como el xilitol y el extracto del fruto del monje sobre la morfología intestinal, por lo cual, posteriormente ahondaremos sobre la función de la barrera intestinal.

2.6 Función de la barrera intestinal

En el epitelio intestinal se lleva a cabo una de las funciones más importantes, que es la digestión de alimentos y absorción de nutrientes. Aunado a ello, el epitelio brinda una barrera bioquímica y física para la difusión de patógenos, toxinas y alérgenos desde el lumen hasta los tejidos mucosos (Suzuki, 2020). Este sistema de barrera intestinal depende de la interacción de varios de sus componentes, tales como la capa de moco, la inmunoglobulina A, los péptidos antibacterianos y las uniones estrechas intercelulares

(TJ), como se observa en la (Fig. 3). Las TJ están formadas por el ensamblaje de múltiples proteínas localizadas cerca de la porción apical de la membrana lateral de las células epiteliales. De manera que su estructura consiste en proteínas transmembrana, como la claudina, la ocludina, la tricelulina, la molécula de adhesión de unión A y proteínas de placa intracelular (Suzuki, 2020).

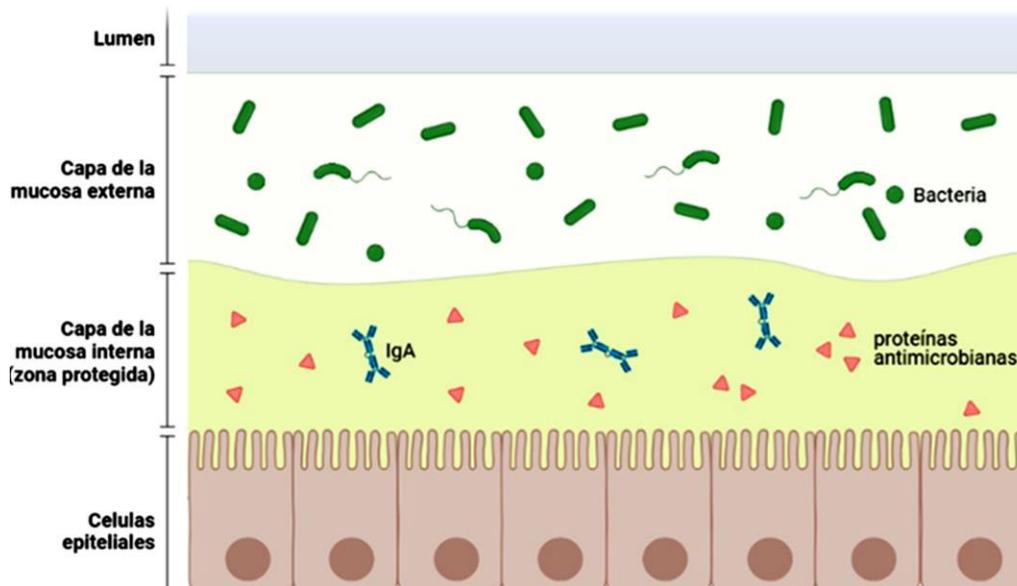


Figura 3. Estructura de la barrera intestinal. La superficie de la mucosa del tracto gastrointestinal está revestida de células epiteliales que establecen una barrera efectiva, mediante uniones intercelulares, entre el medio interno y externo, impidiendo el paso de sustancias potencialmente nocivas. A su vez, la pared gastrointestinal está formada por cuatro capas de tejido especializado (mucosa, submucosa, muscular y serosa o adventicia). Creado con BioRender.com.

Estas interacciones entre las regiones extracelulares de las proteínas transmembrana de las células adyacentes regulan el paso paracelular de las moléculas, lo cual mantiene un adecuado mecanismo de permeabilidad (Wang, et. al., 2019). De manera que cuando se genera un deterioro en integridad de la barrera intestinal, se desencadena una respuesta inflamatoria incontrolada y desregulada, activando las función de las células inmunitarias que causan la inflamación crónica de los tejidos intestinales y que pueden llegar a los diferentes órganos a través de la circulación y desempeñar un papel en la patogénesis de los trastornos no intestinales, como las

enfermedades hepáticas alcohólicas y no alcohólicas, la diabetes, la obesidad y la enfermedad renal crónica (Abdulqadir et al., 2023).

2.6.1 Permeabilidad intestinal asociada a la ingesta de edulcorantes

Respecto a la evidencia del impacto de la ingesta de JMAF y la ingesta de edulcorantes sobre la permeabilidad intestinal se identificó que, la ingesta de refrescos dietéticos con sucralosa y asesulfame k altera las vías transcriptómicas inflamatorias (por ejemplo, señalización NF-KB) en el tejido adiposo subcutáneo. Sin embargo, no alteran significativamente los biomarcadores circulantes (Sylvetsky et al., 2020).

Asimismo, algunos autores han reportado que el acesulfame k aumentó la expresión de citocinas proinflamatorias, disminuyó la expresión de GLP-1R y GLP-2R, e indujo lesiones del intestino delgado. Estas lesiones provocaron un aumento en la permeabilidad intestinal y cambios microbianos aumentando la migración de linfocitos a los microvasos intestinales (Hanawa et al., 2021). Los hallazgos resaltan la necesidad de examinar los efectos moleculares y metabólicos de la exposición a los diversos edulcorantes mediante ensayos de control aleatorio durante un período más largo ya que aún falta mucho por ahondar sobre este tema.

De acuerdo con los hallazgos reportados por (Li et al., 2019) identificaron que una dieta occidental, en la que prevalece la ingesta de JMAF, se asocia con un daño a nivel de la barrera intestinal provocando una disbiosis y un proceso de neuroinflamación del hipotálamo en ratones C57BL/6N.

Esto a nivel estructural del tejido se caracterizó por un aumento significativo de los niveles de interleucina-1 beta (IL 1 β), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y ARNm de IL-6, así como cambios histológicos caracterizados por adelgazamiento de la mucosa intestinal, el epitelio y la muscularis *mucosae*; pérdida de criptas y glándulas, edema de la lámina propia; e infiltración discreta de células inflamatorias en ratones (Y. Li et al., 2020).

2.7. Uso de modelos murinos para ensayos *in vivo* de edulcorantes

Aunque los edulcorantes se consideran seguros de acuerdo con la dosis, sus efectos sobre el mecanismo de la saciedad, el control de peso y su efecto a nivel de la barrera

intestinal son inconclusos debido a la falta de evidencia que lo convierte en un área de oportunidad para seguir trabajando. El Cuadro 3 mostramos algunos de los estudios que han identificado asociación entre la ingesta de edulcorantes como el xilitol y el LHG en la barrera intestinal.

Cuadro 3. Impacto de los edulcorantes en la barrera intestinal

Edulcorante	Modelo	Dosis	Resultado	Referencia
Xilitol	Ratas Wistar macho	(1.25 - 2.5 - 5 g/kg*peso) por sonda nasogástrica	Reduce las lesiones inflamatorias de la mucosa y mejora la barrera intestinal mejorando las proteínas de unión estrecha asociadas a la permeabilidad.	Han et al., 2024
	Ratones macho C57BL6	Concentraciones de 2% (2.17 g / kg / día) o 5% (5.42 g / kg / día)	Aumenta los ácidos grasos de cadena corta, especialmente el propionato en la luz intestinal y el butirato en la mucosa.	Xiang et al., 2021
Extracto del fruto del monje	Ratones con DM tipo 2	5-10- 30 mg/ml	Mejoría en los niveles de AGCC y el estado de la microbiota intestinal.	Ban et al., 2020
Mogrosidos V	Ratonas C57BL/6	(25 - 50 - 100 mg/kg)	Disminuye los problemas de colitis ulcerosa.	Tan et al., 2024
Fructosa	ratones C57BL/6N	25 mg/mL	Una dieta alta en fructosa daña la barrera intestinal, generando un proceso de disbiosis intestinal, el cual es un factor crítico para la neuro inflamación del hipocampo.	Li et al., 2019

3. JUSTIFICACIÓN

Los patrones de ingesta de sacarosa y jarabe de maíz alto en fructosa se encuentran relacionados con enfermedades crónico-degenerativas; las cuales a su vez se han relacionado con una respuesta inflamatoria desde un nivel leve a crónico en el intestino, ocasionando un daño en la barrera intestinal. Aunado a ello, la industria alimentaria oferta una amplia gama de edulcorantes en el mercado, como posible alternativa segura para el control de peso. Sin embargo, la mayoría de estos edulcorantes requieren de análisis específicos que permitan elucidar sus mecanismos de acción en la saciedad y su proceso metabólico, con la finalidad de descartar o identificar posibles repercusiones hacia la salud y asegurar su seguridad alimentaria en diferentes tiempos de consumo.

Para ello, se requiere que cada edulcorante se trabaje en diferentes dosis y periodos ya que, cada uno presenta propiedades específicas que pueden impactar de manera positiva o negativa en los diferentes estadios de desarrollo del modelo de estudio con el que se trabaje. Por lo cual, abonar a esta área es de gran relevancia para la toma de decisiones al momento de emplear cada edulcorante, ya que esto permite determinar las formulaciones adecuadas para el diseño de productos específicos, así como las recomendaciones a sus consumidores.

Es por ello, que se requiere comprender estos mecanismos, debido a que el intestino juega un papel crucial en el metabolismo de edulcorantes y el desarrollo fisiopatológico de diferentes enfermedades por los cambios en la permeabilidad intestinal. Por lo tanto, de acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio podremos coadyubar en la comprensión de los mecanismos de saciedad, su impacto a nivel morfológico y la expresión de proteínas de unión en la barrera intestinal, para determinar si existen asociaciones relacionadas al consumo de edulcorantes como el xilitol y extracto del fruto del monje, empleando técnicas de histopatología e inmunohistoquímica.

4. HIPÓTESIS

La ingesta crónica de xilitol (edulcorante artificial) modifican negativamente la morfología intestinal y la expresión de proteínas de unión de la barrera intestinal de ratones C57BL/6 en comparación con extracto del fruto del monje (edulcorante natural).

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la ingesta crónico e individual de xilitol y fruto del monje sobre la morfología intestinal y la expresión de proteínas de unión de la barrera intestinal de ratones C57BL/6.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

En todos los ratones controles y con tratamiento de edulcorantes:

1. Identificar la concentración de los edulcorantes empleados mediante la técnica de HPLC.
2. Evaluar el impacto de la ingesta crónica de los edulcorantes sobre la ganancia de peso.
3. Cuantificar las poblaciones leucocitarias en sangre periférica a través de microscopia convencional.
4. Identificar la morfología intestinal mediante un estudio histopatológico.
5. Determinar la expresión de proteínas de unión (occludinas) de la barrera intestinal mediante técnica de inmunohistoquímica.

6. METODOLOGÍA

7.1. Caracterización química de los edulcorantes

Para determinar la concentración de los edulcorantes se utilizó el protocolo establecido por Quiñones (2024) implementando la técnica de HPLC Acquity Arc Waters, con una columna de Phenomenex Ca^{+2} , monosaccharides, en una fase móvil de agua a 0.6 mL/min con una temperatura de la columna de 65°C y una temperatura en el detector (IR) = 50°C. Las muestras fueron prefiltradas por 0.22 μm y procesadas con el Software Empower 3 (Fig. 4).



Figura 4. Esquema de la determinación de componentes de los edulcorantes mediante espectrometría de masas. Creado con BioRender.com.

7.2. Diseño experimental

Se desarrolló un estudio experimental comparativo, el cual fue aprobado por el Comité de Ética para la Investigación de la Universidad de Guanajuato (CEPIUG) con el código CEPIUG-P04-2023. Se utilizaron ratones de la cepa C57BL/6, con una edad de 6 semanas divididos en grupos y evaluados durante un periodo de 3 meses (consumo crónico). La estimación del tamaño de muestra se hizo mediante un nivel de significancia del 95 % y un margen de error del 5 %. Por lo cual, los grupos quedaron conformados por 40 ratones (20 machos y 20 hembras) para evaluar si existen diferencias dadas por el sexo. La distribución se ajustó conforme al Cuadro 4, considerando el peso inicial de los ratones y manteniendo las condiciones de luz temperatura controlada. El manejo y la disposición final se hizo de acuerdo con las especificaciones técnicas para la producción,

el cuidado y el uso de animales de laboratorio de la Norma Oficial Mexicana, NOM 062-ZOO-1999 (SAGARPA, 2001) y la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 (DOF, 2002). Los ratones C57BL/6 fueron libres de patógenos y alimentados a libre demanda con la dieta en pellet PicoLab® Rodent Diet 20 y agua purificada estéril.

7.3. Grupo de estudio y administración de edulcorantes

Como fase inicial en la semana de adaptación de los grupos, se registró el peso de cada uno de los ratones, se brindó agua potable estéril y alimento de mantenimiento acorde a lo recomendado por la NOM 062-ZOO-1999 (SAGARPA, 2001). Posteriormente, se administró a libre demanda la ingesta de la bebida, utilizando biberones para cada grupo con una disolución de 200 mL y una concentración diferente para cada edulcorante: al 3 % para el extracto del fruto del monje (MF), 2 % para el xilitol (X) y 10 % para el jarabe de maíz alto en fructosa (CP) como se muestra en el Cuadro 4. Tanto el X como el MF se encontraron con un grado de pureza al 100 %, mientras que el JMAF contó con 99.5 %. Cabe mencionar que cada uno de los edulcorantes se manejó conforme a las indicaciones de almacenamiento del proveedor.

Cuadro 4. Distribución de la ingesta de edulcorantes en modelos murinos

Grupos	Muestra (16 semanas)	Tratamiento
Control negativo (CN)	Machos= 5 Hembras= 5	Agua purificada estéril
Control positivo (CP)	Machos= 5 Hembras= 5	Jarabe de maíz alto en fructosa al 10 %
Extracto del fruto del monje (MF)	Machos= 5 Hembras= 5	Extracto del fruto del monje 3 %
Xilitol (X)	Machos= 5 Hembras= 5	Xilitol 2 %

7.4. Determinación de peso corporal e ingesta de alimento

Para conocer diferencias entre las variables (ganancia de peso e ingestas de bebida y de alimento) se hizo un seguimiento de los posibles cambios mediante un registro de cada tercer día, para ver los cambios en cada grupo de tratamiento y determinar si existían diferencias entre ellos dadas por el consumo de los diferentes edulcorantes (Fig. 5).

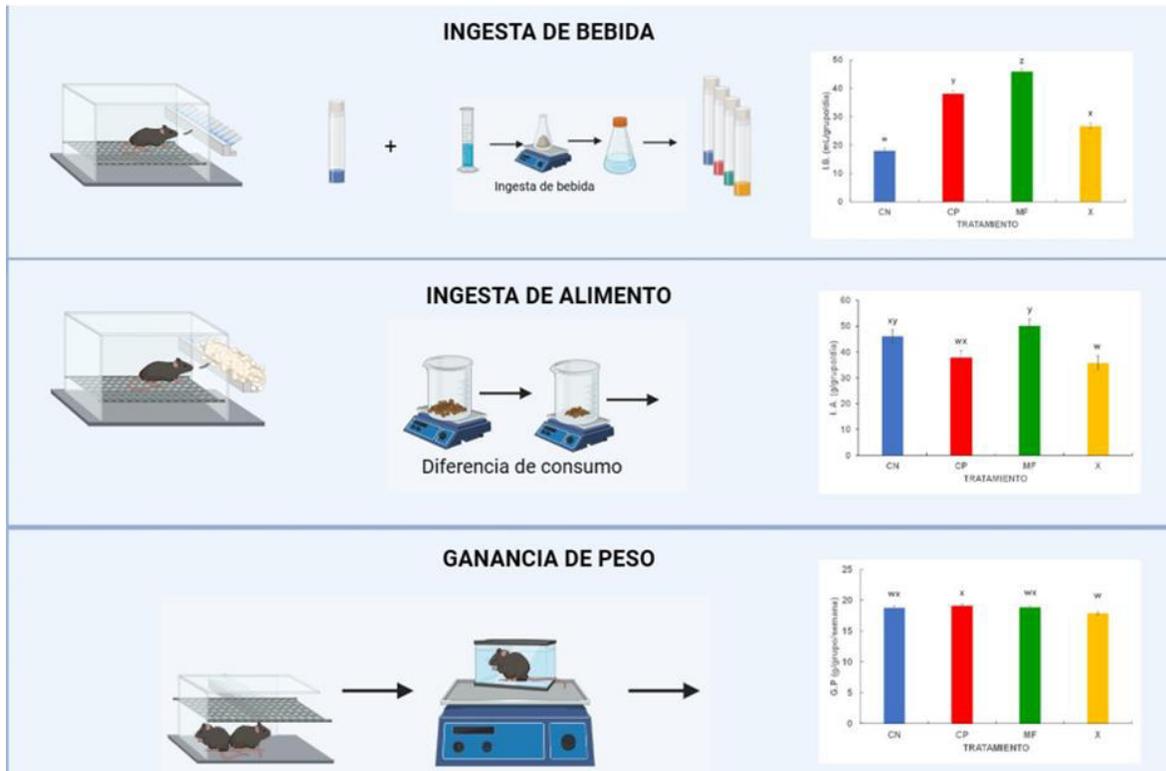


Figura 5. Esquema de evaluación de las variables consumo de alimento y bebida, así como de la ganancia de peso, durante los 3 meses con los diferentes tratamientos en ratones C57BL/6 (macho y hembra). Creado con BioRender.com.

7.5. Necropsias

Una vez finalizadas las 15 semanas de tratamiento, los grupos fueron sacrificados en condiciones de ayuno de 8 h empleando el procedimiento de dislocación cervical con previa anestesia con isoflurano. Todo el procedimiento y mantenimiento de la muestra se basó en las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana para uso y manejo de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999).

Una vez realizada la dislocación cervical, se recolectó la muestra sanguínea en tubos de 2 mL con previa adición de heparina para prevenir la formación de coágulos. Cada muestra se refrigeró en un periodo no mayor de 24 h para dar continuidad a las autopsias.

7.6. Disección y preparación de tejido

Asociado a los cambios identificados en cada uno de los órganos se determinó su peso mediante el uso de una balanza electrónica (VE-500, VELAB®, E.E.U.U.) registrando las unidades en (g). Por otro lado, la longitud del tracto gastrointestinal se midió con un vernier digital (HER-411, Truper®, CN), los resultados del peso se calcularon empleando la siguiente ecuación:

$$\text{Coeficiente de órgano} = A/B * 100$$

Dónde:

peso del órgano (g)

peso del ratón

(Chen et al., 2016).

Posteriormente, cada órgano se sometió a una fijación salina mediante una solución de PBS 1X, inmediatamente después de la eutanasia (SAGARPA, 2001). Para el caso del intestino, se hizo una fijación con una solución bouin aplicando un lavado a presión para desechar restos del quilo y heces. Finalmente, mediante un corte longitudinal se hicieron fragmentos del intestino y se enrollaron para ser sumergidos en formaldehído al 4%.

7.7. Histología

El estudio histopatológico se llevó a cabo utilizando la técnica de tinción de hematoxilina y eosina (H&E) (Y. Li et al., 2020) con ligeras modificaciones (Fig. 6). A su vez, se hizo uso de la “Guía para la evaluación histomorfológica de la inflamación intestinal en modelos de ratón” desarrollada por (Erben et al., 2014).

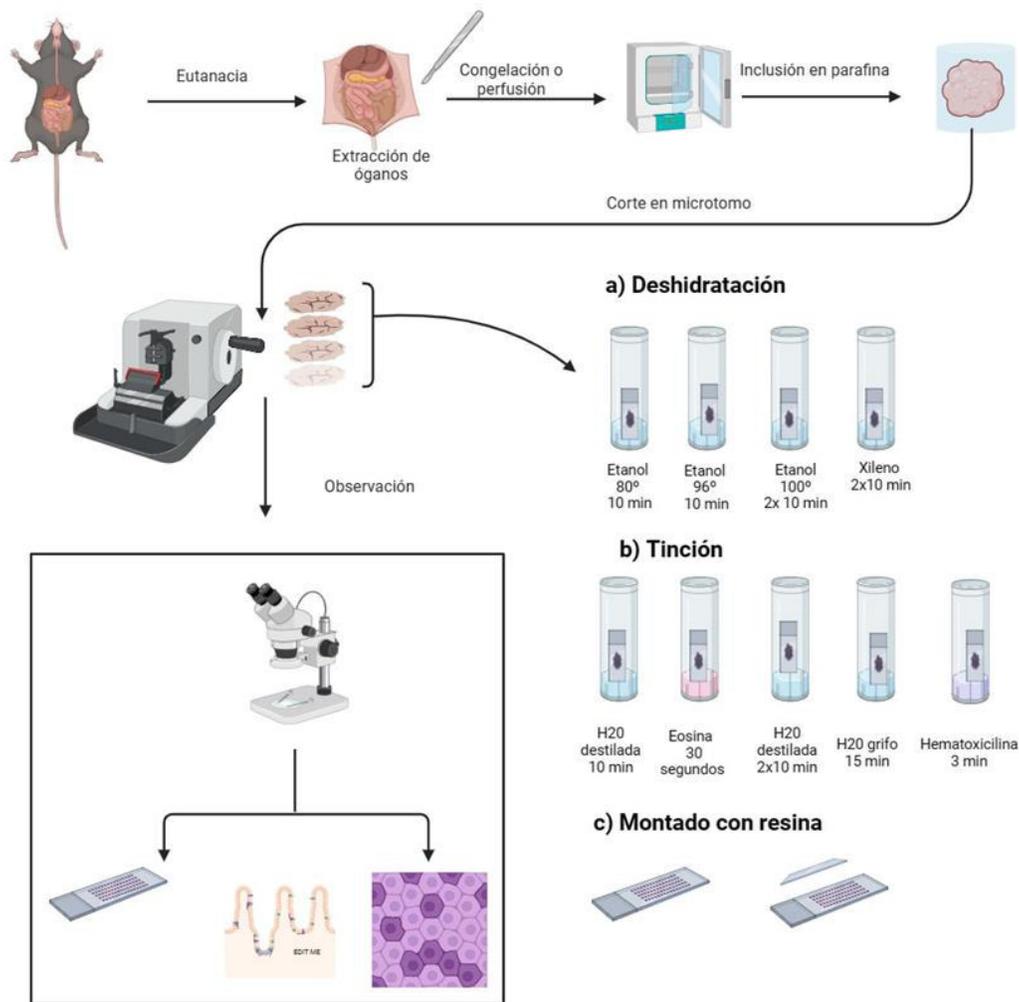


Figura 6. Diagrama de la técnica de histopatología en intestino delgado de ratones C57B/6. Creado con BioRender.com.

- **Deshidratación**

Posteriormente, para realizar una adecuada eliminación de agua en los tejidos, estos se sometieron al proceso de deshidratación, comenzando con un previo lavado de 10 min en agua destilada para eliminar residuos del formaldehído al 4%. A continuación, se aplicó una secuencia de alcoholes, xilol y parafina en diferentes concentraciones como se describe a detalle en el Cuadro 5 (Erben et al., 2014).

Cuadro 5. Proceso de deshidratación y diafanización del tejido

Solución	Tiempo (min)
Etanol 50%	1
Etanol 70%	10
Etanol 80%	10
Etanol 95%	10
Etanol 100%	10
Etanol / Xileno 2:1	10 - 15
Etano Xileno 1:1	10 - 15
Xileno 100%	10 - 15
Xileno / Parafina 2:1	30
Xileno / Parafina 1:1	30
Xileno / Parafina 1:2	30
Parafina 100%	Toda la noche

- **Incrustación**

Transcurrido el tiempo de la deshidratación los tejidos fueron incrustados de manera vertical en parafina histoplast PE[®] con polímeros plásticos. Las muestras se dejaron solidificar a temperatura ambiente y se realizaron cortes de 3 µm utilizando un microtomo (MH310, MICROM[®], D.E.) con un ángulo de 10°. Posteriormente, los cortes se fijaron en un portaobjetos con poli-L-lisina[®] al 0.01 % (Sigma-Aldrich) haciendo un triplicado de cada muestra. (Erben et al., 2014).

- **Tinción con hematoxilina y eosina**

Para desparafinar los portaobjetos se introdujeron al horno a 55 – 60° durante 30 minutos, se enfriaron a temperatura ambiente y se procedió a realizar la técnica de tinción de hematoxilina y eosina como se describe a continuación en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Protocolo de tinción con Hematoxilina & Eosina

Reactivo	Tiempo (min)
Xilol	2
Xilol (segundo frasco)	2
Alcohol absoluto	2
Alcohol 96%	2
Alcohol al 80%	2
Alcohol al 70%	2
Enjuague (agua destilada)	3
Hematoxilina	1-3
Enjuague (agua del grifo)	2 -3
Alcohol ácido (1.5ml en 200ml)	30"
Agua amoniacal 1:10	30"
Eosina	1
Alcohol al 96%	2
Alcohol al 100 %	2
Alcohol al 100% (segundo frasco)	2
Xilol (segundo frasco)	2
Montaje con resina sintética	

Para finalizar con la técnica de H&E las muestras se dejaron secar a temperatura ambiente y se almacenaron hasta su análisis. Para el análisis de imagen se utilizó el objetivo 10x junto con el software (Axiocam 105, ZEN Core[®], D.E.) y el microscopio de fluorescencia (Axio Lab. A1, Zeiss[®], D.E.) generando un banco de imagen para realizar el análisis de bioimagen empleando el software de código abierto (versión 0.4.4, QuPath[™]).

7.8. Hematología

Se determinó una diferenciación leucocitaria con frotis sanguíneos, utilizando la técnica empleada por Li.et al., (2020). Como primer paso se tomaron alícuotas de 5 μ L de muestra, para ser teñidos con la tinción de Lugol. Posteriormente, se realizó un conteo diferencial con el uso del microscopio óptico (VE-B4, Velab[®], Mx.) al objetivo 40x. Así como el uso de la aplicación “cell counter” para el conteo diferencial de leucocitos; considerando neutrófilos (N), linfocitos (L), monocitos (M), eosinófilos (E) y basófilos (B). Los cuales fueron reportados en porcentaje (%) y ser comparados con valores de referencia como se detalla en la Fig. 7.

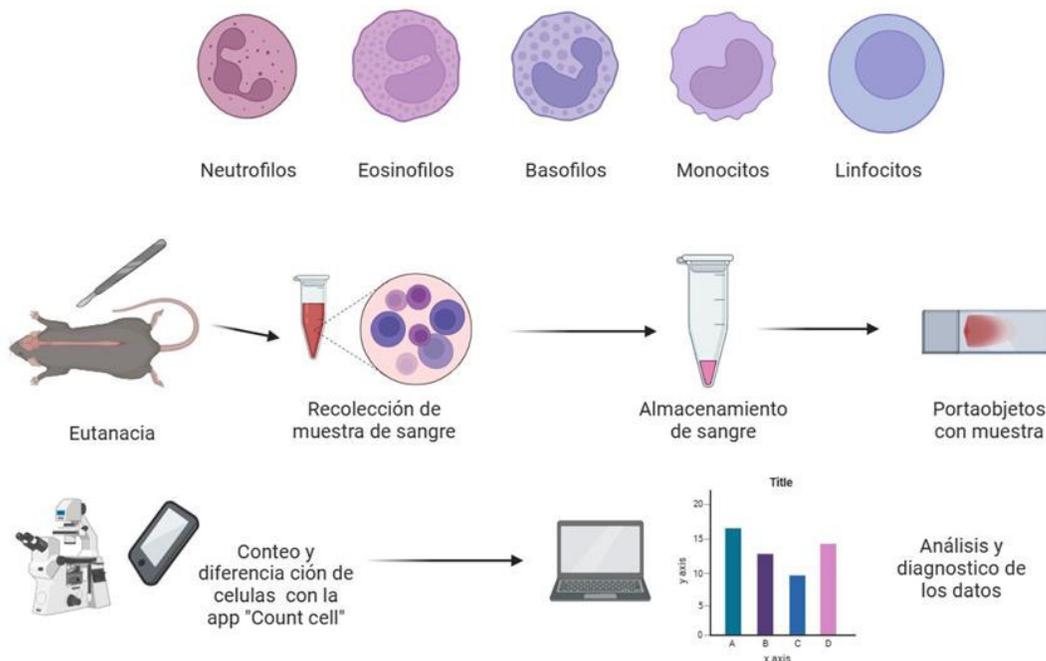


Figura 7. Esquema de la técnica para realizar los frotis sanguíneos y el conteo de leucocitos utilizando la microscopía convencional y una aplicación de conteo en las muestras de sangre de ratones C57BL/6. Creado con BioRender.com.

7.9. Inmunohistoquímica

Para investigar el efecto del xilitol y extracto del fruto del monje sobre la expresión de proteínas de unión de la barrera intestinal se realizó la técnica de inmunohistoquímica (Fig. 8) con un kit MACH 1Univ.HRP de 6 mL, siguiendo el protocolo establecido por Juárez & Martínez (2023) del cual, de acuerdo con los resultados obtenidos se evaluará

la expresión y la intensidad de la ocludina a nivel de la membrana y del citoplasma como se describe a continuación:



Figura 8. Esquema de la determinación de proteínas de unión (occludinas) mediante la técnica de inmunohistoquímica. Creado con BioRender.com.

- **Desparafinado**

Se realizaron cortes de 4 micras en cada muestras utilizando como controles extras secciones de intestino de pollo, perro y cerdo. Posteriormente cada muestra se adhirió a una laminilla electrocargada Kling-On HIER Slides® para ser sometidas a un proceso de desparafinado mediante un horno (FE291-A, FELISA®, Mx.) a 55 – 60°C por 30 min. Para realizar la hidratación del tejido se empleó el siguiente tratamiento (Cuadro 7).

Cuadro 7. Proceso de desparafinado

Reactivo	Tiempo (min)
Xilol	1
Alcohol absoluto	1
Alcohol 96%	1
Alcohol al 80%	1
Alcohol al 70%	1
Enjuague (agua destilada)	5

- **Bloqueo de peroxidasa endógena**

Se realizó el bloqueo de peroxidasa endógena, utilizando una solución de peróxido endógeno + metanol (3mL/97 mL) por 30 min. Para ello, las muestras se colocaron en un vaso coplin con la solución y posteriormente se ubicaron en una zona que no le permitiera que la luz incida directamente, ya que el peróxido es una sustancia sensible a las altas temperaturas y a la luz solar.

- **Recuperación antigénica**

Para facilitar el acceso del anticuerpo primario las laminillas fueron incluidas en Diva Decloaker® 20x (1:19 en agua destilada) en una olla de presión con 500 mL de agua destilada durante 10 min. Al finalizar ese lapso, se liberó la presión, se abrió y se dejaron atemperar las laminillas a 20 min, para finalizar este paso cada laminilla se lavó con PBS + TWEEN al 0.1 % durante 5 min.

- **Bloqueo de proteínas endógenas**

Para prevenir uniones no específicas de anticuerpos y evitar los falsos positivos o problemas de ruido de fondo a las laminillas se les agrego 1 gotas de backgruod sniper® y se dejaron incubar por 15 min en la cámara húmeda. Trascurrido el tiempo de incubación se realizó un lavado con una solución de PBS + TWEEN 0.1 % durante 5 min.

- **Incubación con anticuerpo primario**

Se decantó el PBS y a cada laminilla se le agrego 50 µL de anticuerpo policlonal de ocludina (occludin polyclonal antibody, Lot. YE374853, REF.40-4700, invitrogen) a una dilución de 1:200 para luego ser incubadas en una cámara húmeda durante toda la noche a 4°C finalizado ese paso se realizó un lavado con PBS+TWEEN 0.1 durante 5 min.

- **Incubación con polímero**

Este paso es crucial para detectar la presencia de marcadores proteicos específicos, por lo cual considerando que nuestro anticuerpo es policlonal, a cada laminilla se agregaron 50µL de MACH1 Universal HRP-polymer® y posteriormente se dejó incubar en cámara

húmeda, durante 30 min. Después se realizó un lavado con PBS+TWEEN 0.1% durante 5 min.

- **Revelado**

Para la parte del revelado se preparó DAB (1mL de Betazoid DAB® sustrato buffer + 1 gota de betazoid DAB crhomogen®). A cada laminilla se le aplicó 50 µL de DAB y su reacción fue observada en el microscopio estableciendo un tiempo de revelado de 3 min. Para frenar la reacción se aplicó agua destilada y se realizó un lavado con agua destilada de 3 cambios de 5 min cada uno.

- **Contratinción**

Finalmente, para realizar el paso de la contratinción se aplicó un paso (1 min) en la hematoxilina como contraste y se realizó un lavado con agua corriente para continuar con el siguiente tren de soluciones como se muestra en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Contratinción

Reactivo	Tiempo (min)
Agua amoniacal	30"
Enjuague con agua	1
Alcohol 70%	1
Alcohol al 80%	1
Alcohol al 96%	1
Alcohol absoluto	1
Xilol	1
Montaje con resina sintética	

7.10 Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico Statgraphics (versión 18, Centurion®, E.E.U.U.). Los datos experimentales se presentaron como la media y la desviación estándar. La significancia estadística se determinó mediante un ANOVA de

dos vías, seguido de un análisis *post-hoc* de Tukey para determinar las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos de tratamiento y el sexo.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Análisis de edulcorantes

De acuerdo con los resultados obtenidos por el análisis de HPLC (Cuadro 9), podemos observar la concentración de los compuesto identificados en los edulcorantes utilizados para el tratamiento de nuestros modelos murinos.

Cuadro 9. Identificación de la concentración de edulcorantes empleados en el tratamiento.

Muestras	[muestra en solución] (%)	Identificación	[compuesto] (mg/mL)
Xilitol	1	Xilitol	10.40±0.03
Extracto del fruto del monje	3	Sacarosa	2.17±0.00
		Glucosa	0.45±0.00
Jarabe de maíz alto en fructosa	1	Fructosa	10.39±0.11

El componente principal de dulzor del MF son los glucósidos triterpénicos individuales (mogrósidos IV, V, siamenoide I y 11-oxo-mogrósido V) (Pandey, 2020). Los cuales, de acuerdo con lo reportado por Tan et al., (2024) y Xiangyang et al., (2006) cuentan con propiedades antioxidantes, antihiper glucemiantes y antiinflamatorias. De acuerdo con esta característica el edulcorante suele ofertarse como una alternativa segura para el consumidor. Sin embargo, en este estudio mediante la técnica de HPLC se identificó la presencia de sacarosa (2.17 mg/mL) y glucosa (0.45 mg/mL). Sin embargo, la determinación de mogrósidos no fue viable, debido a que su estándar analítico con pureza aprobada no se encuentra disponible en el mercado. Pero un estudio reportado por (Pandey A. Chauhan O., 2020) nos indican que el principal componente del MF es el mogrósido V, el cual dependiente de su proceso de extracción puede

contener diferentes porcentajes (25 %, 40 %, 45 %, 50 % y 55 %) y aunado a ello de acuerdo con lo reportado por (Younes, et al., 2019).

Las concentraciones de los componentes de glucosa, fructosa y sacarosa se verán modificados, incrementaran su concentración si los porcentajes de mogrosidos son bajos.

Por otro lado, en el caso del X la determinación de la muestra concuerda con lo referido en otros estudios (Wölnerhanssen et al., 2020; Xiang et al., 2021) lo cual, a su vez contribuye a brindar una seguridad en los posibles beneficios de su consumo, destacando la protección ante lesiones inflamatorias de la mucosa intestinal inducidas por la diabetes y los cambios en la permeabilidad intestinal (Han et al., 2024) así como otros beneficios hacia la salud del consumidor (Gasmi Benahmed et al., 2020).

8.2. Ingesta de bebida

De acuerdo con los resultados obtenidos por el ANOVA de dos vías (Cuadro 10), las dos variables independientes estudiadas, tratamiento y sexo, resultaron ser significativas ($p=0.00$). Además, la interacción entre ambas también tuvo un efecto significativo ($p=0.00$) sobre la ingesta de bebida.

Cuadro 10. Resultados del ANOVA de dos vías para las variables de respuesta ingesta de bebida y alimento y peso.

Parámetros	Ingesta				Peso	
	Bebida (g/grupo/día)		Alimento (g/grupo/día)		(g/grupo/día)	
Efecto principal	F	P	F	p	F	P
A: Tratamiento	170.6	0.00	6.6	0.00	3.39	0.01
B: Sexo	117.3	0.00	4.2	0.04	13.52	0.00
Interacciones						
AXB	227.2	0.00	5.66	0.00	33.02	0.00

Los principales efectos significativos de las interacciones están marcados en letras negritas.

De acuerdo con el tratamiento (tipo de edulcorante consumido) (Fig. 9), el grupo administrado con X fue el que menor cantidad de bebida consumió (26.7 ± 0.94 mL/grupo/día) en comparación al CN (18.03 ± 0.94 mL/grupo/día). Por otro lado, el grupo de MF mostró una mayor ingesta de bebida (45.95 ± 0.94 mL/grupo/día) en comparación con X (26.7 ± 0.94 mL/grupo/día) y JMAF (38.1 ± 0.94 mL/grupo/día).

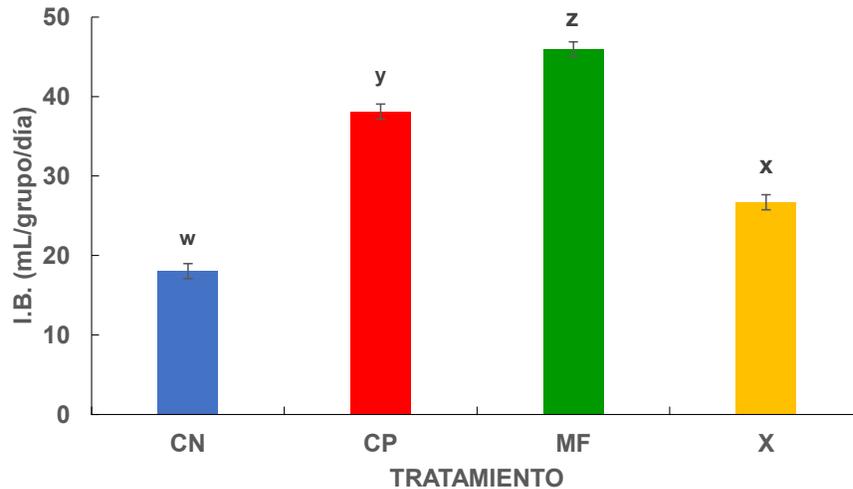


Figura 9. Efecto de la ingesta de edulcorantes sobre la ingesta de la bebida (I.B.) en ratones C57BL/6. ($n = 5$ / grupo); (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 mg/mL; MF/T1: extracto del fruto del monje 3 mg/mL y X/T2: xilitol 2 mg/mL). Los datos se presentan como media \pm DE. Letras minúsculas: w, x, y, z indican diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$).

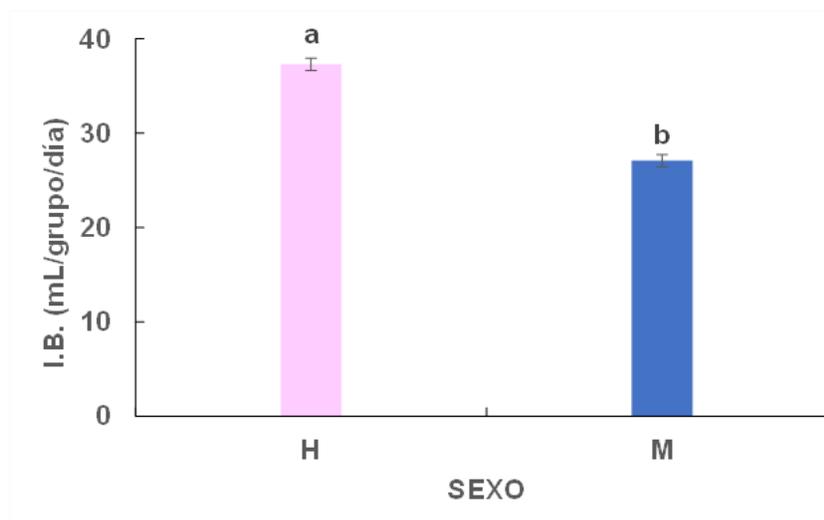


Figura 10. Efecto del sexo sobre la ingesta de la bebida (I.B.) en ratones C57BL/6. ($n = 5$ / grupo). (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 mg/mL; MF/T1: extracto del fruto del monje 3 mg/mL y X/T2: xilitol 2 mg/mL). Los datos se presentan como media \pm DE. Letras minúsculas: a y b indican diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$).

Respecto a la influencia del sexo de los ratones (Fig. 10), las hembras consumieron un 37% más de bebida con respecto a los machos.

8.3. Ingesta de alimento

Con base en los resultados obtenidos por el ANOVA de dos vías (Cuadro 10), las dos variables independientes estudiadas, tratamiento y sexo, resultaron ser significativas ($p=0.00$). Además, la interacción entre ambas también tuvo un efecto significativo ($p=0.00$) sobre la ingesta de bebida.

En el caso del efecto del tratamiento sobre la ingesta de alimento (Fig. 11), el grupo administrado con X fue el que menos alimento consumió (35.85 ± 2.58 g/grupo/día) en comparación al CN (46.07 ± 2.58 g/grupo/día). Por otro lado, el grupo de MF mostró una mayor ingesta de alimento (50.10 ± 2.58 g/grupo/día) con respecto a X (35.85 ± 2.58 g/grupo/día) y JMAF (37.89 ± 2.58 g/grupo/día).

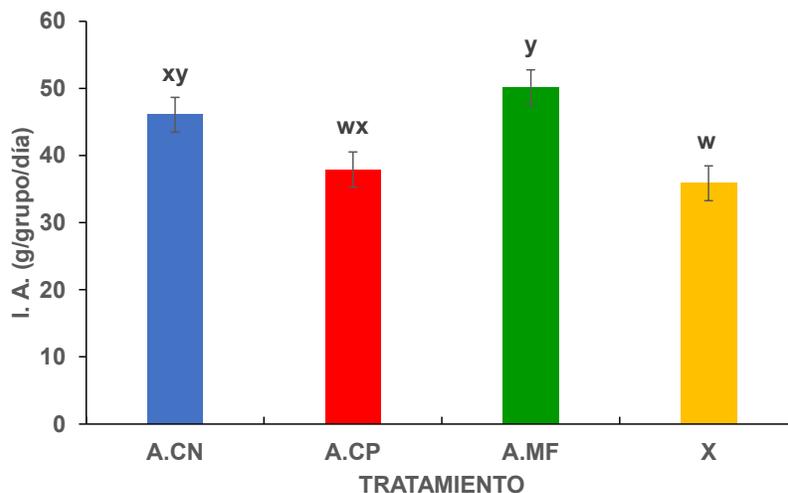


Figura 11. Efecto de la ingesta de edulcorantes sobre el consumo de alimento (I.A) en ratones C57BL/6. ($n = 5$ / grupo). (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 mg/mL; MF/T1: extracto del fruto del monje 3 mg/mL y X/T2: xilitol 2 mg/mL). Los datos se presentan como media \pm DE. Letras minúsculas: w, x, y indican diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$).

De acuerdo con el sexo de los ratones (Fig. 12), las hembras consumieron un 13% más de alimento con respecto a los machos.

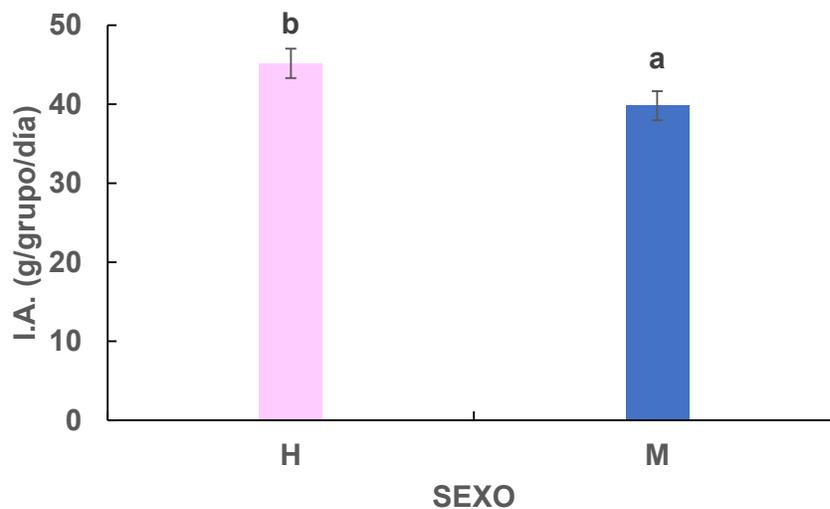


Figura 12. Efecto del sexo sobre la ingesta de alimento (I.A.) en ratones C57BL/6. ($n = 5/\text{grupo}$). (H: hembra; M: macho). Los datos se presentan como media \pm DE. Letras minúsculas a y b indican diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$).

7.4 Ganancia de peso

El tratamiento induce cambios ($p < 0.05$) en la ganancia de peso, (Fig.13) esta variable a su vez se asocia con la ingesta de bebida y alimento. Estos tres factores, permiten elucidar mecanismo de la saciedad y determinar el comportamiento de cada edulcorante (Bocarsly et al., 2010; J.-M. Li et al., 2019; Staltner et al., 2023; Wölnerhanssen et al., 2020). Sin embargo, en este estudio únicamente se mostraron diferencias (~ 1.21 g/grupo/semana) en la administración de X con respecto al grupo del CP.

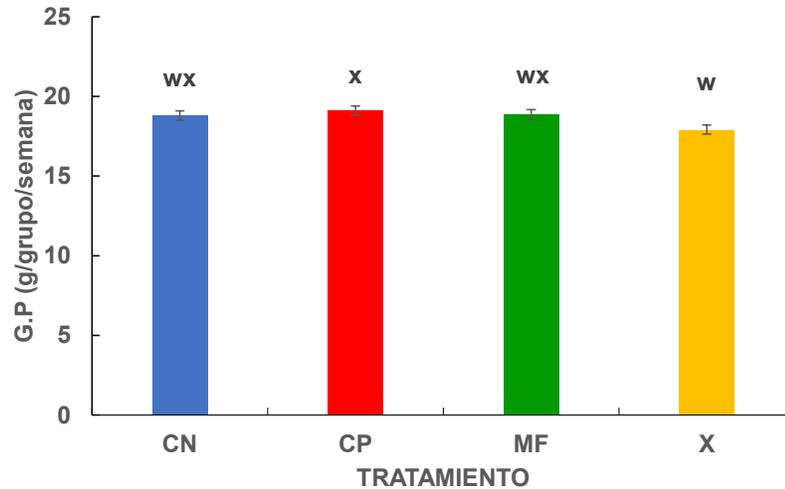


Figura 13. Efecto de la ingesta de edulcorantes sobre la ganancia de peso (G.P.) en ratones C57BL/6. ($n = 5/\text{grupo}$). (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 mg/mL; MF/T1: extracto del fruto del monje 3 mg/mL y X/T2: xilitol 2 mg/mL. Los datos se presentan como media \pm DE. Letras minúsculas: w, x, indican diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$).

Respecto a la influencia del sexo de los ratones (Fig. 14), los machos (19.20 ± 0.20 g/grupo/semana) obtuvieron una ganancia del 3 % con respecto a las hembras (18.15 ± 0.20 g/grupo/semana)

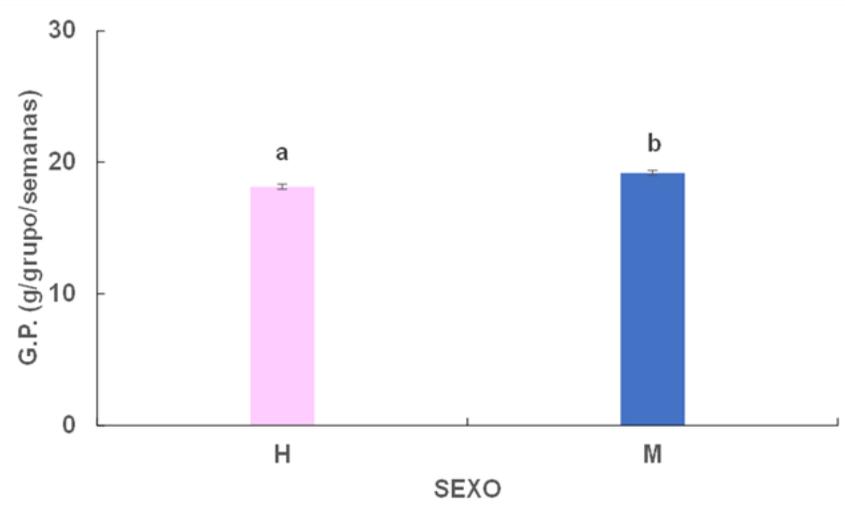


Figura 14. Efecto del sexo sobre la ganancia de peso (G.P.) en ratones C57BL/6. ($n = 5/\text{grupo}$). (H: hembras; M: macho). Los datos se presentan como media \pm DE. Letras minúsculas a y b indican diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$).

Para poder explicar la asociación entre la ingesta del edulcorante y su impacto en las variables de ingesta de alimento y ganancia de peso, se debe retomar el mecanismo de la saciedad; ya que este es pieza clave para comprender la relación de estas tres variables. En el caso del X se ha reportado que su ingesta favorece la libración del

péptido similar al glucagón-1 (GLP-1) y la colecistoquinina (CCK) en el intestino (Wölnerhanssen et al., 2016). Esto brinda una respuesta a la ingesta de alimento, lo que, a su vez, promueve la saciedad y por ende reduce el vaciamiento gástrico (GE).

Este mecanismo permite modular la homeostasis de la glucosa, aunque esta se estimula por los receptores del sabor dulce en el intestino y conduce a la liberación de incretinas y hormonas gastrointestinales. El X conduce a un aumento de la CCK y el GLP-1 (Wölnerhanssen et al., 2016), lo cual, disminuye la ingesta de la bebida edulcorada y por ende la de alimento. Sin embargo, tanto para el MF y el JMAF el mecanismo presenta un efecto contrario. Esto se debe a que el JMAF no proporciona el mismo nivel de satisfacción y sensación de saciedad que la ingesta de X, lo que conlleva a comer en exceso y generar una alteración en el mecanismo de la saciedad JMAF (Kim, 2023).

Además, en el caso del X esto se asocia a que presenta un menor aporte calórico, que a su vez contribuye al metabolismo y el almacenamiento de los lípidos; causado una miniaturización de los adipocitos lo que favorece la lipólisis y la oxidación de los ácidos grasos en el hígado (Rahman & Islam, 2014). Gracias a esto, el X puede influir de manera positiva en el control de sobrepeso y la obesidad (Bordier et al., 2021).

Relacionado a lo anterior podemos elucidar el mecanismo de acción del X en nuestras variables de estudio, ya que nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Rahman & Islam (2014), los cuales usaron ratones Sprague - Dawley macho de 5 semanas de edad para ser alimentados con dosis de 2.5 %, 5 % y 10 % de X, durante 4 semanas encontrando una disminución significativa del peso a una dosis 10%. En el caso de (Kikuko et al., 2011) también usaron ratas Sprague - Dawley machos de 9 semanas de edad alimentadas con dieta rica en grasa y una dosis de X de 1,0 y 2,0 g/100 kcal durante 8 semanas y también observaron una disminución de grasa visceral de un 15.5 y 17 % respectivamente.

En el caso de Sato et al. (2011), estos autores trabajaron con ratas Wistar macho durante 40 días y al finalizar su estudio informaron de una disminución del peso al consumir del 10 al 20 % de X en la dieta. Recientemente, un estudio reportado por Han et al. (2024), donde estudiaron ratas Wistar macho de 7 semanas de edad con diabetes,

también identificaron el mismo efecto de la reducción de ingesta de alimento, lo cual indica que tanto en periodos cortos como en periodos crónicos el efecto de la ingesta de X impacta en la ingesta de alimento y por ende promueve el control de peso.

Por otro lado, tenemos el caso del MF, que es un edulcorante de origen natural y se ha brindado como una buena alternativa para su ingesta, debido a su origen. Sin embargo, no por ello, podemos aseverar lo mismo que el X, ya que con base a los resultados obtenidos en esta investigación el MF al 3 % con un grado de pureza al 100 % no es adecuado implementarlo para el control de peso ya que presento un patrón similar al del JMAF.

El MF al ser un edulcorante nuevo falta mucho por trabajar, sin embargo, ya se cuenta con informes donde observan cambios sobre la ganancia de peso, aunque el enfoque va más hacia la toxicidad. Marone et al. (2008) analizaron por 28 días a ratas Hsd:SD, las cuales consumieron MF con 39 % de mogrósidos V y una dosis de 0, 10 y 30 mg/kg de peso en machos y hembras, observando una oscilación entre la reducción y el aumento de peso de manera significativa en ambos sexos.

Otro estudio de toxicidad realizado por Jin et al. (2023) en el cual trabajaron con ratas Wistar Hannover (GALAS), de ambos sexos. Éstas fueron alimentadas con MF al 0 %, 0.04 %, 0.2 %, 1 % y 5 % por 13 semanas, sin especificar el contenido de mogrósidos. Los autores mostraron que no hubo diferencias significativas en el peso corporal, la ingesta de alimento y la ingesta de bebida (excepto en las hembras, posiblemente debido a derrames).

Sin embargo, para conocer el mecanismo del MF a largo plazo requiere de más análisis que nos permitan conocer su composición y su impacto en la ganancia de peso y su interacción en los mecanismos de la saciedad.

7.5 Cambios macroscópicos de los órganos

Para identificar alteraciones morfológicas asociadas con alguna patología por la ingesta crónico de MF y X se realizaron necropsias (Fig.15). Como se puede observar en la imágenes, los principales cambios se notaron a nivel del tracto gastrointestinal de los

ratones (macho y hembra) que consumieron JMAF (Fig. 15 B). También se notó un fácil desprendimiento del tejido intestinal de los ratones (macho y hembra) que consumieron MF (Fig. 15 C) y en el caso del X (Fig.15 D) y CN (Fig. 15 A) no se observó daño aparente en ambos sexos. Por otro lado, se notaron cambios en la coloración del hígado en ratones (macho y hembra) que consumieron JMAF y MF.

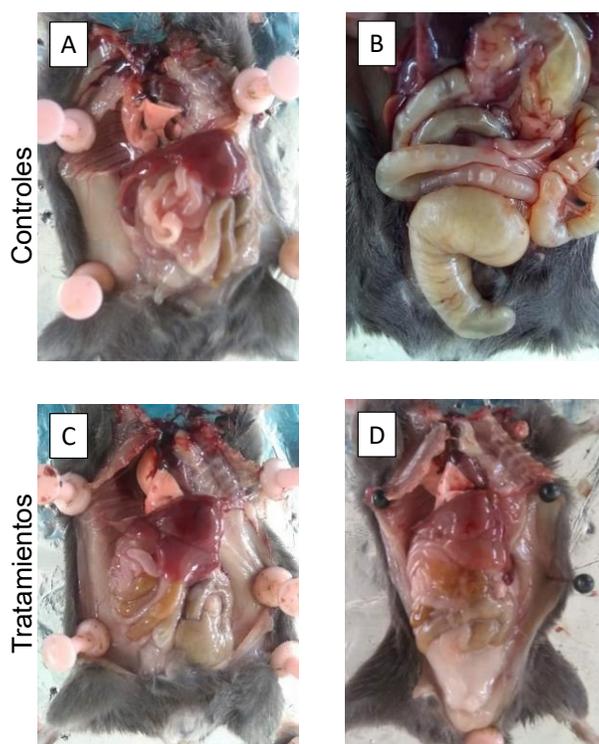


Figura 15. Identificación de cambios físicos en la apariencia de los órganos de los ratones (macho y hembra) C57BL/6 al término del tratamiento. (A: Control negativo: agua; B) Control positivo: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %; C: Tratamiento 1: extracto del fruto del monje 3 %; D: Tratamiento 2: xilitol 2 %).

8.5.1. Peso de los órganos y longitud del intestino delgado

Para evaluar el coeficiente del peso de los órganos y la longitud del intestino delgado se realizó un ANOVA de dos vías (Cuadro 11). Para ello, se obtuvo un efecto del tratamiento en el intestino delgado ($p=0.00$), intestino grueso ($p=0.00$) y riñones ($p=0.00$). Además, se presentó una interacción entre ambas variables independientes con resultado significativo en intestino delgado ($p=0.00$) e intestino grueso ($p=0.00$).

De acuerdo con el tratamiento y su impacto en los coeficientes de peso de los órganos podemos observar que el grupo del CP (JMAF) obtuvo el mayor coeficiente en el intestino delgado (4.83 ± 0.37 %) en comparación al CN (2.34 ± 0.37 %), MF (1.94 ± 0.37 %) y X (2.07 ± 0.37 %) (Cuadro 12). Por otro lado, el grupo administrado con el tratamiento del X obtuvo el mayor coeficiente en el intestino grueso (69.06 ± 5.40 %) en comparación con el CN (32.92 ± 5.40 %), CP (30.44 ± 5.40 %) y MF (26.22 ± 5.40 %). Finalmente, se muestran diferencias en el coeficiente de peso de los riñones en los tratamientos MF (24.78 ± 1.64 %) y X (25.09 ± 1.64 %) respecto al CN (18.43 ± 1.64 %).

Cuadro 11. Resultados del ANOVA de dos vías para los coeficientes de los órganos.

Parámetros	Peso de órganos																	
	Cerebro		Corazón		Estómago		Hígado		Intestino delgado		Intestino grueso		Bazo		Páncreas		Riñones	
	(g)		(g)		(g)		(g)		(g)		(g)		(g)		(g)		(g)	
Efecto principal	F	p	F	p	F	P	F	P	F	P	F	p	F	p	F	p	F	p
A: Tratamiento	0.83	0.36	0.81	0.49	0.76	0.52	0.91	0.44	13.75	0.00	15.10	0.00	0.00	0.95	0.72	0.54	133	0.00
B: Sexo	1.91	0.14	0.00	0.97	0.94	0.33	6.14	0.01	1.23	0.27	8.78	0.00	0.69	0.56	9.76	0.00	3.76	0.01
Interacciones																		
AXB	1.64	0.19	0.06	0.97	0.89	0.45	0.65	0.59	4.86	0.00	7.05	0.00	0.96	0.42	1.07	0.37	1.55	0.21

Los principales efectos significativos de las interacciones están marcados en letras negritas

Cuadro 12. Coeficientes de los pesos de los órganos (%) y la longitud del intestino delgado (mm) asociada al tratamiento.

Coeficiente del órgano	TRATAMIENTO			
	CN	CP	MF	X
Cerebro	39.24 ± 3.00	47.39 ± 3.00	45.07 ± 3.00	39.39 ± 3.00
Corazón	0.82 ± 0.11	0.77 ± 0.11	0.85 ± 0.11	0.63 ± 0.11
Estómago	19.23 ± 2.70	19.67 ± 2.70	23.53 ± 2.70	23.50 ± 2.70
Bazo	4.96 ± 3.80	11.44 ± 3.80	5.97 ± 3.80	10.10 ± 3.80
Hígado	101.69 ± 7.80	116.55 ± 7.80	115.34 ± 7.80	117.14 ± 7.80
Intestino delgado	4.83 ± 0.37^x	2.34 ± 0.37^w	1.94 ± 0.37^w	2.07 ± 0.37^w
Intestino grueso	32.92 ± 5.40^w	30.44 ± 5.40^w	26.22 ± 5.40^w	69.06 ± 5.40^x
Páncreas	1.09 ± 0.18	1.40 ± 0.18	1.34 ± 0.18	1.14 ± 0.18
Riñones	18.43 ± 1.64^w	21.66 ± 1.64^{wx}	24.78 ± 1.64^x	25.09 ± 1.64^x
Longitud del intestino	362.03 ± 14.60	371.60 ± 14.60	412.13 ± 14.60	366.85 ± 14.60

Los superíndices de las filas de la misma columna indican una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos. Donde: w, x, y, z están dados en función del tipo de tratamiento (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %; MF/T1: extracto del fruto del monje 3 %; X/ T2: xilitol 2 %).

Respecto a la influencia del sexo, se muestra que existe un porcentaje mayor para los órganos de los machos, principalmente dada en el hígado (18 %), páncreas (37 %) y riñones (58 %) con respecto a los órganos de las hembras (Cuadro 13).

Cuadro 13. Coeficientes de los pesos de los órganos (%) y la longitud del intestino delgado (mm) asociada al sexo.

Órgano	Sexo	
	Macho	Hembra
Cerebro	41.43 ± 2.00	44.12 ± 2.00
Corazón	0.77 ± 0.07	0.77 ± 0.07
Estómago	20.18 ± 1.90	22.81 ± 1.90
Bazo	8.22 ± 2.60	8.00 ± 2.60
Hígado	122.11 ± 5.33^b	103.26 ± 5.42^a
Intestino delgado	2.55 ± 0.25	3.00 ± 0.25
Intestino grueso	47.46 ± 3.60	31.85 ± 3.75
Páncreas	1.52 ± 0.12^b	0.96 ± 0.12^a
Riñones	31.73 ± 1.12^b	13.25 ± 1.14^a
Longitud del intestino delgado	376.00 ± 10.00	380.30 ± 10.00

Los superíndices de las filas de la misma columna indican una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos según la prueba post-hoc Tukey. Donde (a, b) están dados en función del tipo del sexo.

8.6 Conteo de leucocitos

Se evaluó la cantidad y diferencia de leucocitos presentes en los frotis sanguíneos, posteriormente se realizó un ANOVA de dos vías (Cuadro 14). En el caso de la variable tratamiento, se obtuvo un efecto ($p=0.01$) en los neutrófilos, la cual coincidió con la variable sexo, mostrando también un efecto significativo de ($p=0.00$) en los neutrófilos segmentados, esta relación de ambas variables la podemos identificar en la (Fig. 16).

Cuadro 14. Resultados del ANOVA de dos vías para los tipos de leucocitos y las principales interacciones dadas por el sexo y la ingesta de edulcorantes.

Parámetros	Linfocitos		Monocitos		Eosinófilos		Neutrófilos en banda		Neutrófilos segmentados		Basófilos	
	F	<i>p</i>	F	<i>P</i>	F	<i>P</i>	F	<i>p</i>	F	<i>P</i>	F	<i>P</i>
A: Tratamiento	1.43	0.25	2.59	0.07	1.18	0.33	3.94	0.01	4.41	0.01	2.67	0.06
B: Sexo	1.14	0.29	0.48	0.49	0.82	0.49	0.02	0.90	18.95	0.00	0.05	0.81
Interacciones												
AXB	3.44	0.02	4.68	0.00	0.82	0.49	2.56	0.07	2.51	0.07	1.10	0.36

Los principales efectos significativos de las interacciones están marcados en letras negritas.

De acuerdo con el conteo realizado en los diferentes tratamientos, se mostró un menor número de neutrófilos en banda (Cuadro 15) de los grupos tratados con JMAF (0.70 ± 1.10 células/100) respecto al CN (6.00 ± 1.10 células/100) y X (5.30 ± 1.10 células/100). A su vez, se mostró un menor número de neutrófilos segmentados en los grupos tratados con JMAF (0.00 ± 1.50 células/100) respecto al CN (5.90 ± 1.50 células/100) y MF (7.40 ± 1.50 células/100).

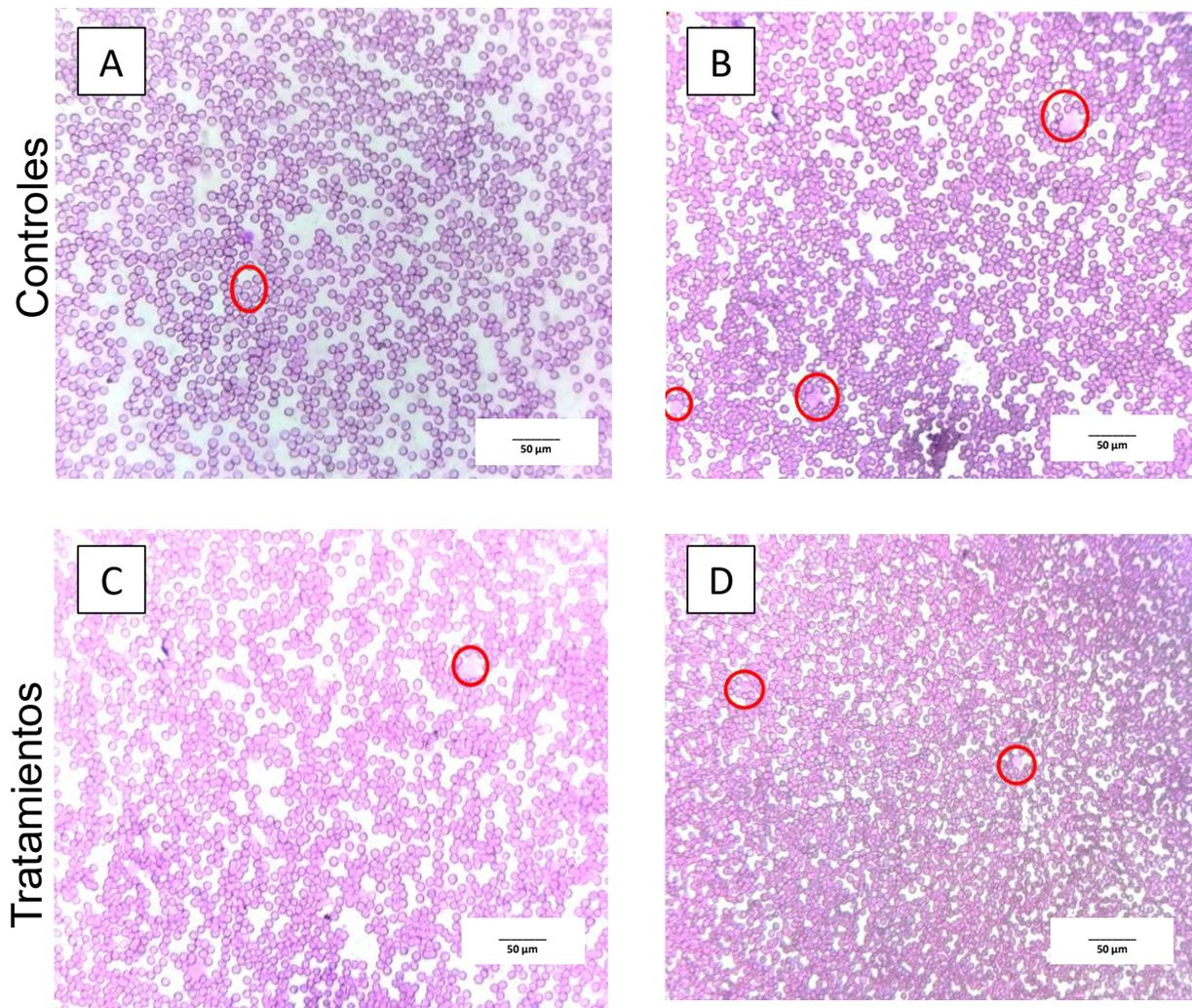


Figura 16. Micrografía de leucocitos presentes en los frotis sanguíneos. de ratones C57BL/6 con la tinción de Wright. Aumento 10x. (A: Control negativo: donde se identifica un linfocito. B: Control positivo: jarabe de maíz alto en fructosa en el que se identifica varios basófilos. C: extracto del fruto del monje en el que se identifica un basófilo. D: Xilitol en el que se identifica dos linfocitos.

Cuadro 15. Diferencias en los tipos de leucocitos y la interacción dada por el tratamiento

Leucocitos	Tratamiento			
	CN	CP	MF	X
Linfocitos	46.10 ± 4.60	47.60 ± 4.60	57.50 ± 4.60	45.60 ± 4.60
Monocitos	40.70 ± 4.00	37.40 ± 4.00	29.10 ± 4.00	44.40 ± 4.00
Eosinófilos	0.00 ± 0.55	1.20 ± 0.55	0.00 ± 0.55	0.00 ± 0.55
Neutrófilos en banda	6.00 ± 1.10^x	0.70 ± 1.10^w	3.50 ± 1.10^{wx}	5.30 ± 1.10^x
Neutrófilos segmentados	5.90 ± 1.50^x	0.00 ± 1.50^w	7.40 ± 1.50^x	3.80 ± 1.50^{wx}
Basófilos	1.30 ± 2.10	4.70 ± 2.10	2.50 ± 2.10	9.30 ± 2.10

Los superíndices de la columna indican una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos. Donde: w, x están dados en función del tipo de tratamiento (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %; MF/T1: extracto del fruto del monje 3 %; X/T2: xilitol 2 %).

Respecto a la influencia del sexo en los tipos de leucocitos presentes en frotis sanguíneo podemos observar que existe más del (87 %) de neutrófilos segmentados en los machos con respecto a las hembras (Cuadro 16).

De acuerdo con los hallazgos obtenidos en nuestro estudio podemos inferir un diagnóstico de neutropenia en las hembras que consumieron de manera crónica JMAF. Dada la falta relación entre el impacto de la ingesta de JMAF y los cambios en los porcentajes de neutrófilos, no podemos hacer una relación directa. Sin embargo, se ha identificado que los niveles bajos de neutrófilos pueden estar dados por un mecanismo asociado a una muerte prematura de los neutrófilos a través de la apoptosis, especialmente en el ambiente oxidativo por una susceptibilidad a la inflamación intestinal (Danne et al., 2023). La causa de este daño podría estar relacionada por una alteración metabólica que genera una disbiosis mediada por la dieta (Saez et al., 2023).

Cuadro 16. Diferencias en los tipos de leucocitos dada por el sexo

Órgano	Sexo	
	Macho	Hembra
Linfocitos	46.70 ± 3.30	51.70 ± 3.30
Monocitos	36.50 ± 2.80	39.30 ± 2.80
Eosinófilos	0.55 ± 0.30	0.05 ± 0.30
Neutrófilos en banda	3.95 ± 0.84	3.80 ± 0.84
Neutrófilos segmentados	7.60 ± 1.08 a	0.95 ± 1.08 b
Basófilos	4.70 ± 1.50	4.20 ± 1.50

Los superíndices de la columna indican una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos. Donde: a, b están dados en función del sexo.

Cabe destacar que los neutrófilos, junto con otras células como monocitos macrófagos y células dendríticas conforman la inmunidad innata o primera línea de defensa. Por lo cual, los neutrófilos, desempeñan un papel importante en la inflamación intestinal, contribuyendo a la eliminación de patógenos invasores y a la restitución epitelial, mientras que al mismo tiempo participan en la alteración de la arquitectura de las criptas y generan daño tisular por parte de los espectadores, funciones que impiden y promueven el desarrollo de la enfermedad inflamatoria intestinal (Saez et al., 2023).

Por otro lado, estudios previos han demostrado que las disfunciones de los neutrófilos por una resolución tardía están asociadas con la inflamación intestinal, conduciendo a una activación inflamatoria persistente y a una lesión de la mucosa, por lo cual, una alteración de las funciones de los neutrófilos juega un papel importante en la patogénesis de la enfermedad inflamatoria intestinal (G. Li et al., 2021).

8.7. Histología del intestino

Para evaluar cambios en la morfología de las vellosidades se hizo un ANOVA de dos vías (Cuadro 17). La variable tratamiento tuvo un efecto sobre la longitud ($p=0.00$) y lo ancho ($p=0.00$) de las vellosidades, así como de la longitud de las criptas ($p=0.00$) Además, la interacción entre ambas variables independientes también resultó ser significativa ($p=0.00$) en las longitud de las vellosidades y las criptas.

Cuadro 17. Diferencias en las vellosidades y las criptas de la barrera intestinal dada por la interacción del tratamiento con los edulcorantes y el sexo de los ratones C57BL/6

Parámetros	Ancho de la vellosidad		Longitud de vellosidad		Longitud de la cripta	
	(μm/vellosidad/campo)		(μm/vellosidad/campo)		(μm/cripta/campo)	
Efecto principal	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
A: Tratamiento	8.33	0.00	38.42	0.00	43.33	0.00
B: Sexo	1.63	0.20	57.50	0.00	1.15	0.28
Interacciones						
AXB	3.00	0.05	28.96	0.00	8.78	0.00

Los principales efectos significativos de las interacciones están marcados en letras negritas.

En la Figura 17 podemos destacar que las hembras que consumieron el MF la morfología del intestino se caracterizó por una pérdida de criptas y aumento en su longitud, así como un edema en la lámina propia y adelgazamiento de la mucosa.

A su vez, en la Figura 18 se observa el mismo patrón de las hembras en los machos, destacando que en el edulcorante del MF se presenta una marcada acumulación de gotas de lípidos, presente en la mucosa intestinal y una pérdida de células caliciformes que muestran gotas de moco transparente, así como una hiperplasia con criptas alargadas asociadas al aumento de las células epiteliales.

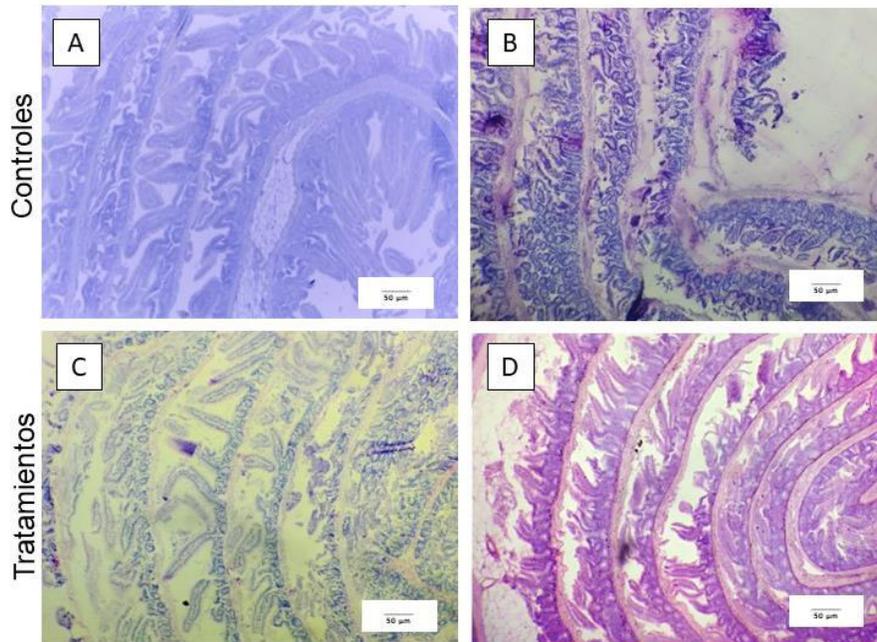


Figura 17. Micrografía de histología intestinal con tinción de H&E en ratonas hembra C57BL/6. Aumento 10x. (A: Control negativo: agua; B: Control positivo: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %; C: Extracto del fruto del monje 3 %; D: xilitol 2 %).

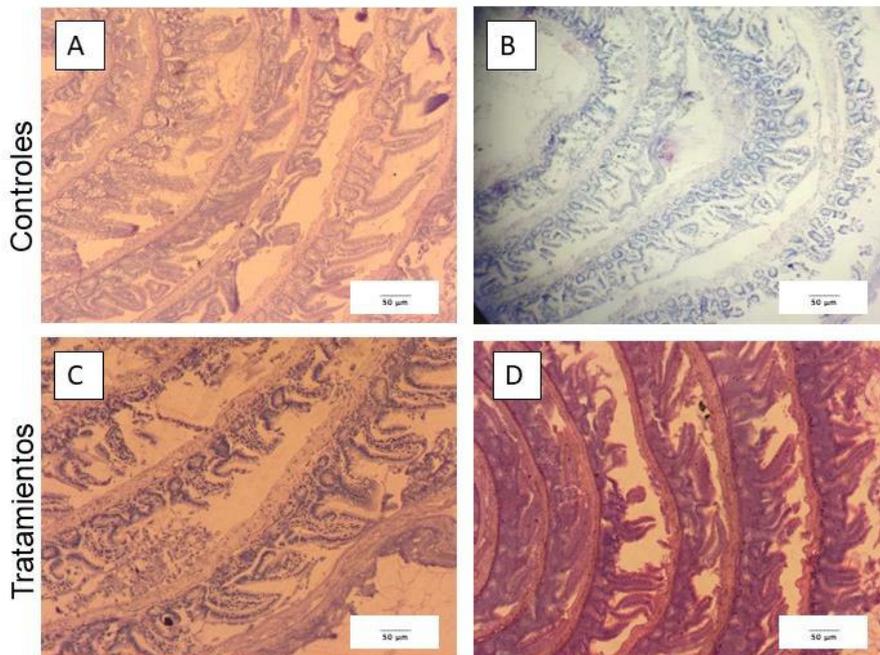


Figura 18. Micrografía de histología intestinal con tinción de H&E en ratones macho C57BL/6 al 10x (A: Control negativo: agua. B: Control positivo: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %, C: Extracto del fruto del monje 3 %, D: xilitol 2 %).

8.8. Longitud de las criptas

El consumo crónico del tratamiento induce cambios ($p < 0.05$) en la morfología intestinal de la longitud de las criptas (Fig. 19). En el caso del MF, en comparación con CP, la longitud fue superior ($p < 0.05$) ($\sim 8.18 \mu\text{m}$). Así como, con el X ($p < 0.05$), ($\sim 25.58 \mu\text{m}$) y el CN ($\sim 25.64 \mu\text{m}$) y entre los tratamientos (X y CP), el CP mostró una longitud superior ($p < 0.05$) de ($\sim 17.4 \mu\text{m}$).

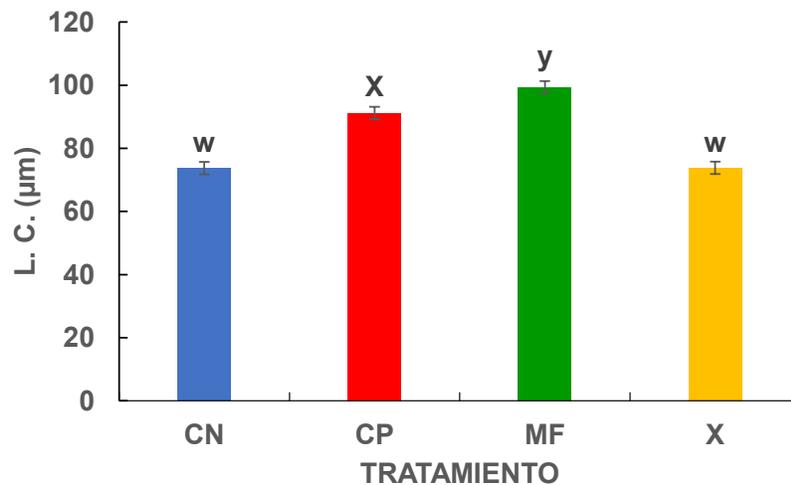


Figura 19. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre la longitud de las criptas (L.C.) en ratones C57BL/6. ($n = 5$ / grupo). (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %. MF/T1: extracto del fruto del monje 3 %; X/T2: xilitol 2 %). Los datos se presentan como media \pm DE. Las letras indican diferencias significativas entre los grupos: w, x, y, ($p < 0.05$).

Estos datos sugieren que la morfología intestinal estaba evidentemente alterada en ratones alimentados con JMAF y MF, por lo que la función intestinal también puede verse alterada. Por lo tanto, las alteraciones en la homeostasis intestinal pueden representar el primer punto de una cadena de eventos que dan lugar a enfermedades gastrointestinales, debido a la disbiosis ocasionada.

Cabe destacar que para poder analizar los cambios morfológicos presentes en nuestros modelos murinos se hizo uso de la “Guía para la evaluación histomorfológica de la inflamación intestinal en modelos de ratón” (Erben et al., 2014). En dicha guía mencionan que los cambios observados en las criptas son asociadas a un proceso de hiperplasia, debido a las pérdidas de criptas en modelos murinos, lo cual desencadena

un proceso de inflamación intestinal. Este mismo efecto fue reportado por (Guo et al., 2021), donde observaron que la fructosa en lechones disminuía la expresión de proteínas de unión estrecha y miosina quinasa de cadena ligera (MLCK) en el tejido ileal, que a su vez repercutía en un proceso de inflamación crónica y por ende en una disbiosis intestinal que aumentaba el riesgo de una alteración del eje intestino-cerebro.

8.9. Longitud y ancho de las vellosidades

Para evaluar modificaciones en la longitud y el ancho de las vellosidades se realizó un ANOVA de dos vías (Cuadro 17). La variable tratamiento mostró un efecto ($p=0.00$) sobre la variable longitud y a su vez sobre el ancho de las vellosidades ($p=0.00$). Además, la interacción entre ambas variables independientes resultó significativa ($p=0.00$) en la longitud de las vellosidades.

De acuerdo con la Figura 20, el grupo administrado con X fue el que obtuvo una menor longitud en lo ancho de las vellosidades ($54.2 \pm 2.6 \mu\text{m}$) en comparación al CP ($63.17 \pm 2.6 \mu\text{m}$) y MF ($68.5 \pm 2.6 \mu\text{m}$). Por otro lado, se identificó que, de acuerdo con el tratamiento, se mostró un efecto en la longitud de las vellosidades (Fig. 21), el grupo administrado con X fue el que obtuvo la mayor longitud de las vellosidades ($350 \pm 6.6 \mu\text{m}$) en comparación al CN ($254.68 \pm 6.6 \mu\text{m}$), CP ($224.99 \pm 6.6 \mu\text{m}$) y MF ($300.74 \pm 6.6 \mu\text{m}$).

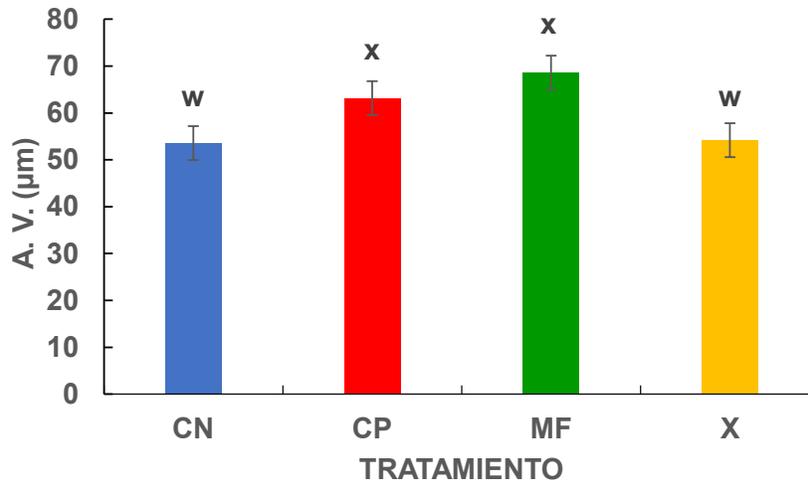


Figura 20. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre lo ancho de las vellosidades (A.V.) en ratones C57BL/6. ($n = 5$ / grupo). (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %. MF/T1: extracto del fruto del monje 3 %; X/T2: xilitol 2 %). Los datos se presentan como media \pm DE. Las letras indican diferencias significativas entre los grupos: w, x, ($p < 0.0$)

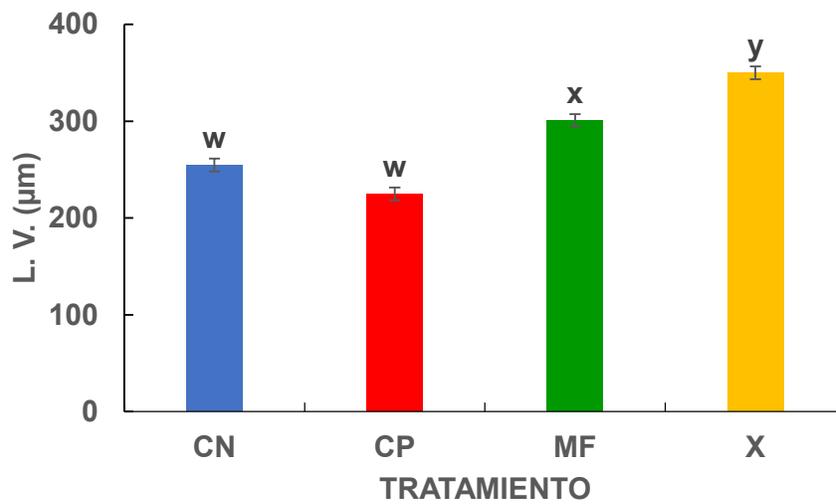


Figura 21. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre la longitud de las vellosidades (L.V.) en ratones C57BL/6. ($n = 5$ / grupo). (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %. MF/T1: extracto del fruto del monje 3 %; X/T2: xilitol 2 %). Los datos se presentan como media \pm DE. Las letras indican diferencias significativas entre los grupos: w, x, y ($p < 0.05$).

Respecto a la influencia del sexo de los ratones (Fig. 22), las hembras presentaron un aumento del 45 % en la longitud de las vellosidades intestinales con respecto a los machos.

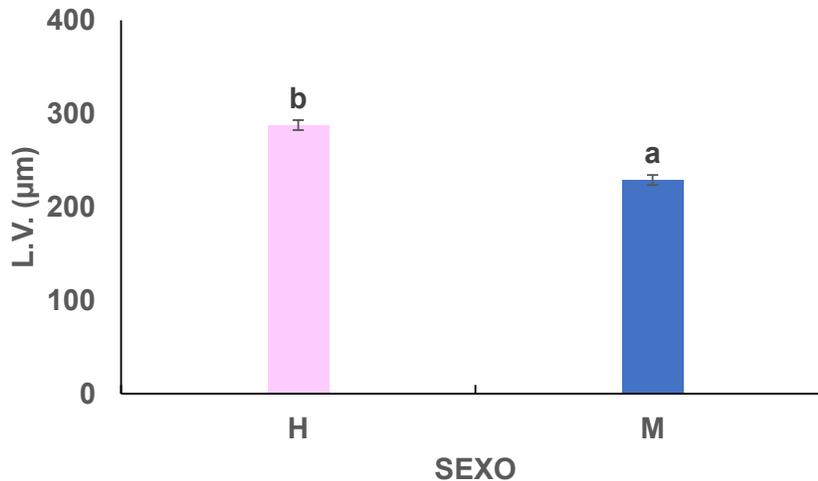


Figura 22. Efecto del sexo sobre la longitud de las vellosidades (L.V.) en ratones C57BL/6. ($n = 5/\text{grupo}$). (H: hembra; M: macho). Los datos se presentan como media \pm DE. Las letras indican diferencias significativas entre los grupos: (a, b) ($p < 0.05$).

De acuerdo con la evidencia reciente se ha sugerido que el JMAF también es metabolizado en el intestino delgado y conduce al deterioro de la barrera intestinal (Fig. 23). Este mecanismo es influenciado junto con sus metabolitos impactando no solo en la barrera intestinal, sino también en la comunidad de la microbiota, lo que contribuye a una mayor absorción de nutrientes y al desbordamiento de los sustratos lipogénicos hacia el hígado (Fig. 23). La abundancia de JMAF y sus metabolitos desencadenan la lipogénesis de novo en el hígado y dan lugar a la acumulación de lípidos y a la esteatosis hepática (Yu et al., 2021).

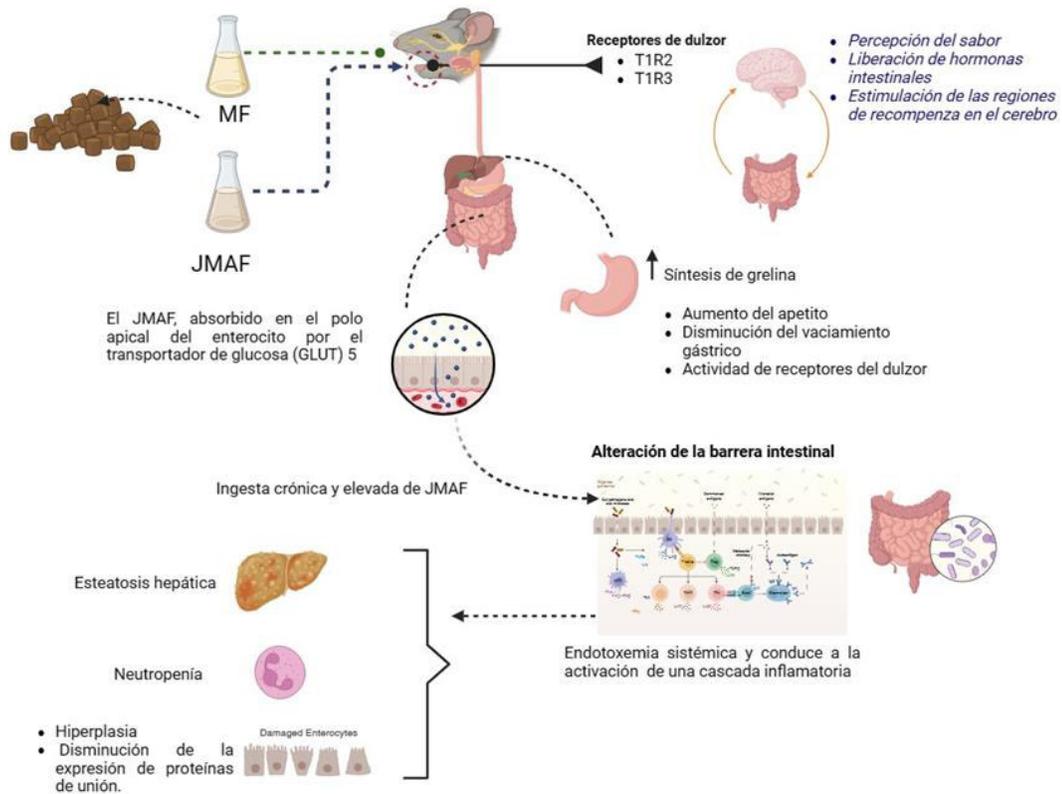


Figura 23. Metabolismo y mecanismo de la saciedad de la fructosa y extracto del fruto del monje. Creado con BioRender.com.

Aunado a ello, los hallazgos reportados por (Pan et al., 2018) sobre el eje intestino-hígado, contribuyen para elucidar el mecanismo y el impacto que puede generar la ingesta de JMAF con la acumulación de lípidos hepáticos. A su vez, nos permite interpretar el posible efecto que se genera asociado a la ingesta del MF; debido a que presentar un patrón similar sobre la morfología intestinal. Estos hallazgos contribuyen para comprender el impacto de la ingesta de estos edulcorantes en la microbiota intestinal, dado que el intestino es el primer órgano que está expuesto a los niveles de JMAF y MF, no es de extrañar que la ingesta excesiva de estos esté relacionada con enfermedades intestinales y efectos en la composición de la microbiota intestinal (Jung et al., 2022; Todoric et al., 2020).

En el caso del JMAF puede explicarse que después de su ingestión es metabolizado por el tracto gastrointestinal o en el hígado, de tal manera que la fructosa es absorbida en el polo apical del enterocito por el transportador de glucosa (GLUT) 5 (Febbraio & Karin, 2021). Sin embargo, este proceso puede alterarse al existir una ingesta crónica y elevada de JMAF, presentando alteraciones en la integridad de la barrera intestinal, lo que resulta en una endotoxemia sistémica y conduce a la activación de una cascada inflamatoria a través de la señalización del receptor 4 tipo toll de macrófagos (TLR4), y a su vez esto se asocia con una hepatoesteatosis inducida por el factor de necrosis tumoral (TNF) (Todoric et al., 2020).

Además, se han demostrado que la fructosa puede provocar estrés en el retículo endoplasmático de los enterocitos, dando lugar al deterioro de la barrera intestinal (Todoric et al., 2020). Sin embargo, para el caso del MF, aún se requieren de más estudios que coadyuven en una comprensión más exhaustiva sobre este mecanismo, como el que se describe anteriormente en el caso del JMAF, por lo cual aún no podemos aseverar con precisión en los hallazgos reportados en nuestro estudio.

Finalmente, para el caso del X, aunque aún hace falta conocer su mecanismo de acción a detalle, algunos autores han demostrado que éste modula la composición y la actividad microbiana intestinal y por ende brinda beneficios gastrointestinales (Salli et al., 2019). Este mecanismo puede deberse a que el X de la dieta es absorbido por el intestino delgado y es metabolizado por la vía metabólica normal del hígado, además, más de la mitad del X es digerido en el intestino por bacterias y éstas se encargan de producir ácidos grasos de cadena corta, que a su vez favorecen en la disminución del proceso inflamatorio. (Xiang et al., 2021). Sin embargo, aún hace falta estudios asociados a los cambios de la barrera intestinal sobre los efectos a nivel morfológico del intestino delgado.

Considerando lo mencionado previamente, cabe destacar la importancia de ahondar a detalle sobre la barrera intestinal y la modulación de la microbiota intestinal, debido a que en conjunto éstas se encargan de regular la permeabilidad intestinal, mediante las uniones intercelulares (TJ) destacando entre ellas a nivel del citoplasma (zónula occludens) y a nivel de la membrana (occludina y claudina). Por lo cual, un cambio

en la expresión de estas proteínas podría alterar la fisiología intestinal, aumentando la predisposición a ciertas patologías gastrointestinales (Untersmayr et al., 2022). De ahí la importancia de evaluar los cambios de su expresión la cual ahondaremos posteriormente.

8.10. Expresión de la ocludina en el intestino delgado

Se realizó la estandarización de la técnica de inmunohistoquímica, para conocer la dilución adecuada del anticuerpo y su expresión en intestinos delgados de diferentes especies, con la finalidad de elegir el control adecuado (Fig. 24).

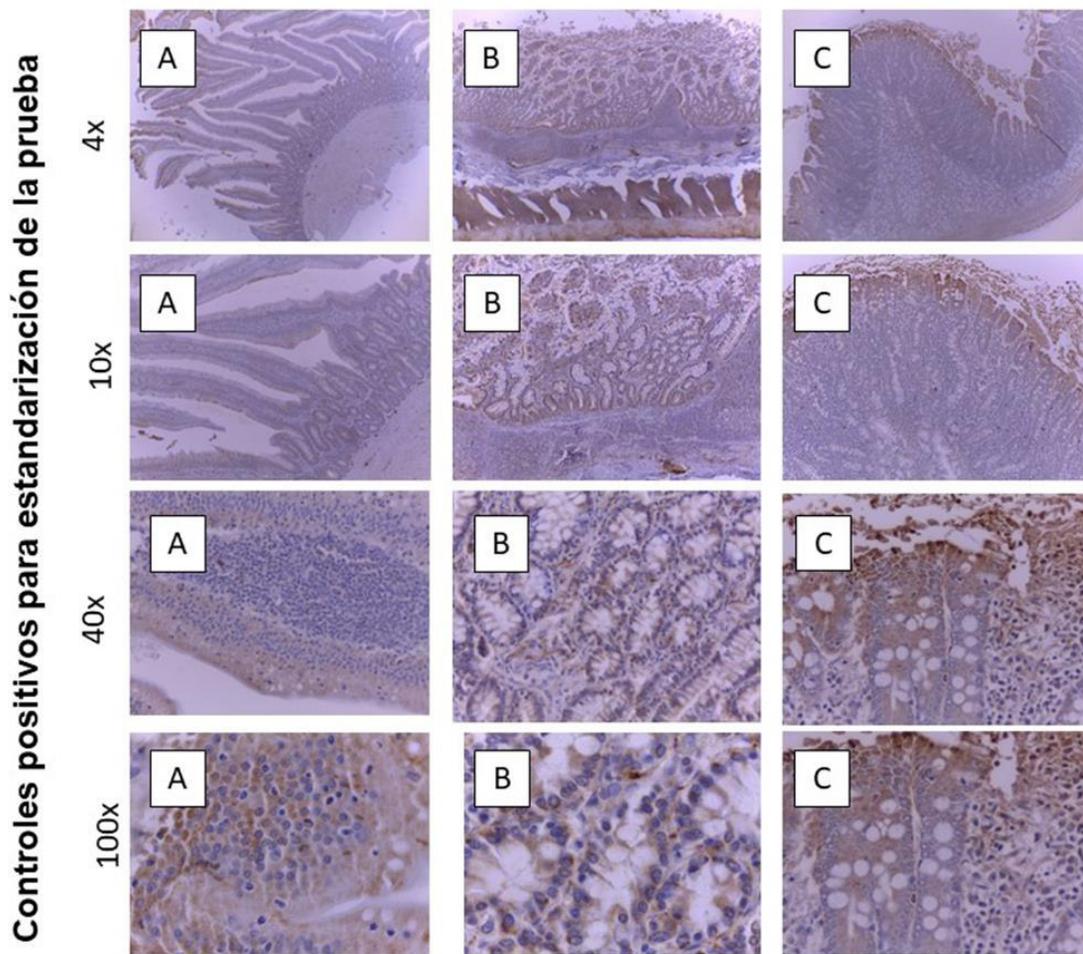


Figura 24. Micrografía de intestino con la técnica de inmunohistoquímica al 4x, 10x, 40x y 100x de diferentes especies de intestino (A: pollo, B: perro, C: cerdo) para evaluar controles positivos, empleando una dilución al 1:200 del anticuerpo de ocludina policlonal

Posteriormente, se evaluó efecto del consumo crónico de los edulcorantes sobre la expresión y la intensidad de la ocludina en la membrana y en el citoplasma de los enterocitos del intestino delgado de ratones macho (Fig. 25) y hembra (Fig. 26).

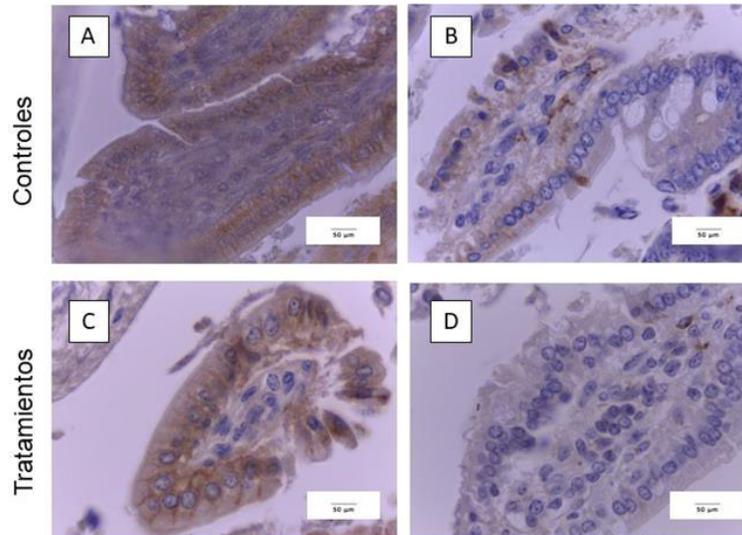


Figura 25. Micrografía de inmunohistoquímica en el intestino delgado de ratones macho C57BL/6 al 100x para determinar cambios en la ocludina (A: Control negativo: agua. B: Control positivo: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %, C: Extracto del fruto del monje 3 %, D: xilitol 2 %).

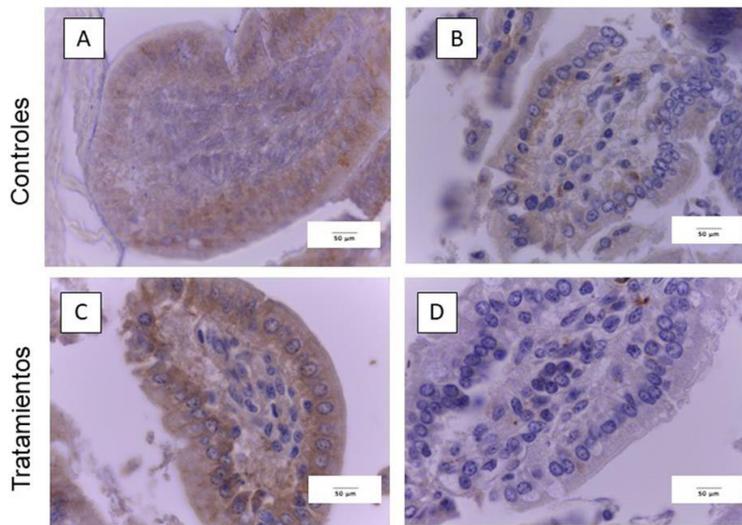


Figura 26. Micrografía de inmunohistoquímica en el intestino delgado de ratones hembra C57BL/6 al 100x para determinar cambios en la ocludina (A: Control negativo: agua. B: Control positivo: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %, C: Extracto del fruto del monje 3 %, D: xilitol 2 %).

Con base en los datos cuantitativos obtenidos de las micrografías, se realizó un ANOVA de dos vías (Cuadro 18). Respecto al tratamiento, esta variable tuvo un efecto ($p=0.00$) sobre la expresión de la ocludina en la membrana y en el citoplasma (área positiva e intensidad). En el caso del sexo, esta variable solo tuvo impacto ($p=0.00$) en la intensidad de la expresión de la ocludina en el citoplasma. Así como, la interacción de ambas variables independientes presento un efecto ($p=0.00$) sobre la expresión de la ocludina en citoplasma (área positiva e intensidad). Las diferencias en el sexo pueden estar dadas por la cantidad de ingesta del edulcorante.

Cuadro 18. Resultados del ANOVA de dos vías para la expresión de ocludina y las principales interacciones dadas por el sexo y los tratamientos.

Parámetros	Expresión de ocludina en membrana				Expresión de ocludina en citoplasma			
	Área positiva (píxeles/ área)		Intensidad (histological score)		Área positiva (píxeles/ área)		Intensidad (histological score)	
Efecto principal	F	P	F	P	F	P	F	P
A: Tratamiento	136.65	0.00	216.35	0.00	4.19	0.00	147.2	0.00
B: Sexo	3.21	0.07	3.47	0.06	2.65	0.1	76	0.00
Interacciones								
AXB	5.66	0.00	17.7	0.00	2.1	0.1	25.8	0.00

Los principales efectos significativos de las interacciones están marcados en letras negritas.

De acuerdo con los resultados obtenidos de la ocludina, es importante destacar que es una proteína de membrana integral (~65 kDa) sujeta a alteraciones de tamaño (varianza de empalme y proteólisis) y a una amplia modificación covalente por (fosforilación y ubiquitinación). Además, es relevante porque contribuye a la estabilización de la TJ y a la función de barrera óptima (Chelakkot et al., 2018; Cummins, 2012). Sus cambios en la expresión se correlacionan con modificaciones en la permeabilidad intestinal. Por ejemplo, niveles elevados de la ocludina se asocian con fosforilación en (Ser/Thr) que a su vez se han correlacionado con una mayor

permeabilidad epitelial. En contraste su disminución en la expresión también se asocia con un desequilibrio en el mantenimiento de la integridad de la barrera (Camilleri, 2021).

Aunque la capa epitelial es muy dinámica y tiene una tasa de recambio de cada dos días, su regulación es estricta para evitar un desequilibrio en la homeostasis. Sin embargo, como se observó en el Cuadro 19, el tratamiento en un periodo crónico puede impactar de manera significativa en la modulación de la expresión de la ocludina, dado que se ha reportado que el tipo de dieta puede modular y generar cambios positivos o negativos (Camilleri, 2021).

8.10.1. Expresión de ocludina en la membrana de los enterocitos

De acuerdo con el tratamiento, se mostró un efecto en la expresión de ocludina en la membrana del intestino (Fig. 27). Así, se identificó que, los grupos X y CP fueron los que obtuvieron una menor expresión de la ocludina (5.46 ± 1.16 y 13.12 ± 1.16 pixeles/área, respectivamente) en comparación con CN (24.70 ± 1.16 pixeles/área) y MF (36.55 ± 1.16 pixeles/área).

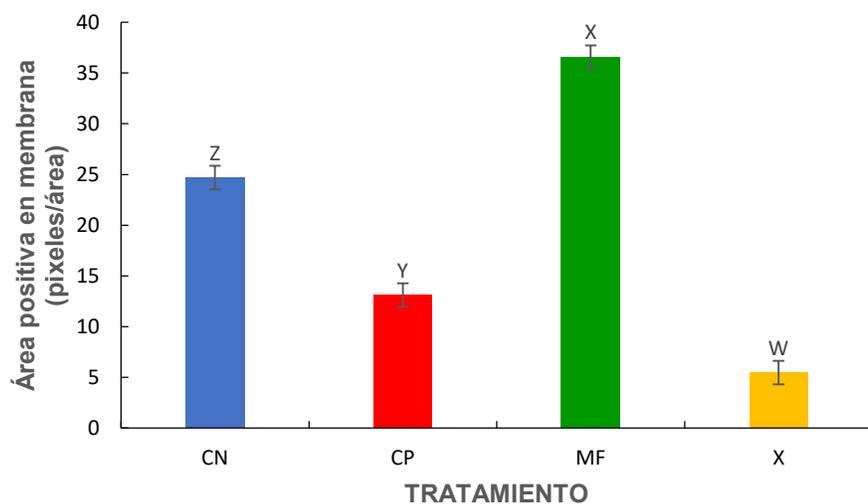


Figura 27. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre la expresión de ocludina en la membrana de los enterocitos de los ratones C57BL/6. (n = 5/ grupo). (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %. MF/T1: extracto del fruto del monje 3 %; X/T2: xilitol 2 %). Los datos se presentan como media \pm DE. Las letras indican diferencias significativas entre los grupos: w, x, y, z ($p < 0.05$).

8.10.2. Intensidad de la expresión de la ocludina en la membrana del intestino delgado

El consumo crónico del tratamiento induce cambios ($p < 0.05$) en la expresión de ocludina (Fig.28). En el caso de MF, la intensidad de la expresión de la ocludina fue superior ($p < 0.05$) en comparación con JMAF (~1.36 histological score), el X (~1.6 histological score) y el CN (~0.44 histological score). Para el caso del X, se mostraron diferencias ($p < 0.05$) con el CN (~1.15 histological score) presento una mayor intensidad. En relación con X y JMAF se mostró una diferencia ($p < 0.05$) de (~0.23 histological score).

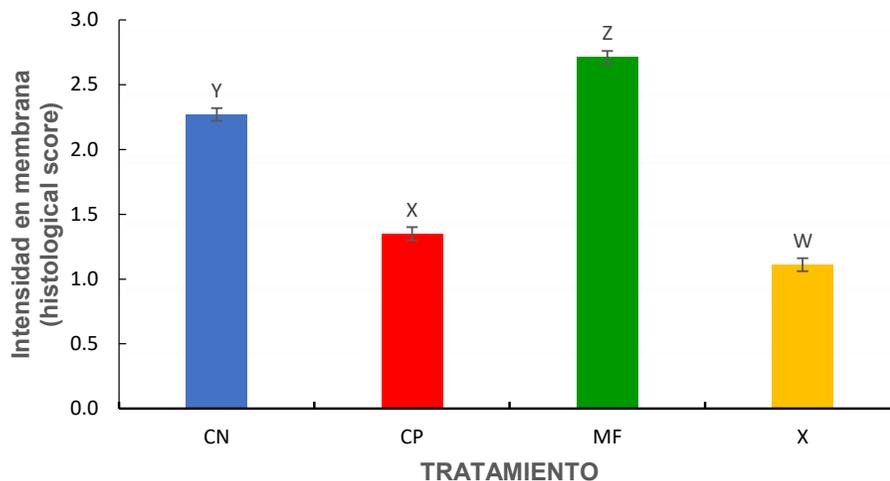


Figura 28. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre la intensidad de la expresión de ocludina en la membrana de los ratones C57BL/6. (n = 5/ grupo). (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %. MF/T1: extracto del fruto del monje 3 %; X/T2: xilitol 2 %). Los datos se presentan como media \pm DE. Las letras indican diferencias significativas entre los grupos: w, x, y, z ($p < 0.05$).

8.10.3. Expresión de ocludina en el citoplasma de los enterocitos del intestino delgado

De acuerdo con el tratamiento, se mostró un efecto en la expresión de ocludina en citoplasma (Fig. 29). Respecto a los cuatro tratamientos, el grupo MF mostró una mayor expresión de la ocludina (231.69 ± 21.48 pixeles/área) en comparación con CN (136.89 ± 23.80 pixeles/área), CP (135.32 ± 21.48 pixeles/área) y X (155.08 ± 21.48 pixeles/área).

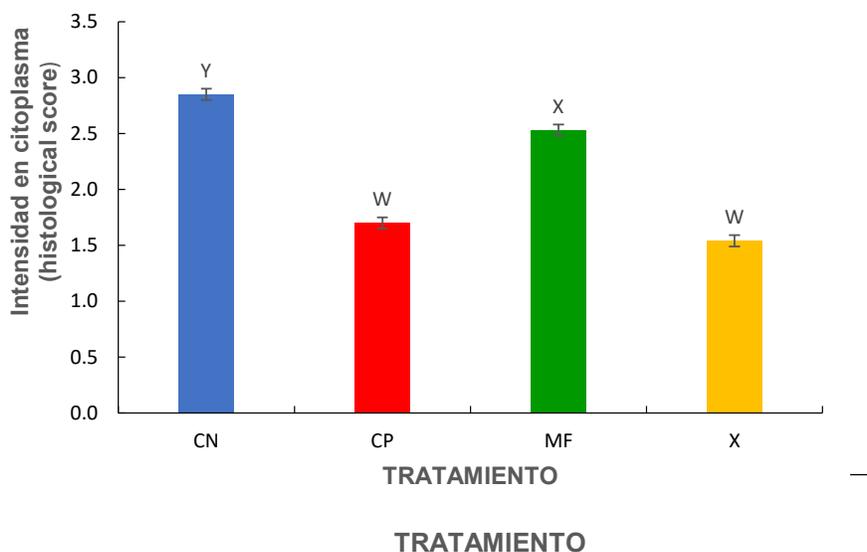


Figura 29. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre la expresión de ocludina en citoplasma de los enterocitos de ratones C57BL/6. (n = 5/ grupo). (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %. MF/T1: extracto del fruto del monje 3 %; X/T2: xilitol 2 %). Los datos se presentan como media \pm DE. Las letras indican diferencias significativas entre los grupos: w, x ($p < 0.05$).

8.10.4. Intensidad de la expresión de ocludina en citoplasma

El consumo crónico del tratamiento induce cambios ($p < 0.05$) en la morfología intestinal y, en consecuencia, en la expresión de la ocludina (Fig.30). En el caso de MF, en comparación con JMAF, la intensidad de la expresión de la ocludina fue superior ($p < 0.05$) (~0.83 histological score). Así mismo, la expresión fue superior ($p < 0.05$), en comparación con el X (~0.99 histological score). Pero, con respecto a MF, CN se presentó una mayor ($p < 0.05$) expresión de ocludina en el citoplasma (~0.32 histological score) para el CN. En el caso del X, con el grupo CN, la intensidad fue mayor ($p < 0.05$) en el citoplasma (~0.32 histological score).

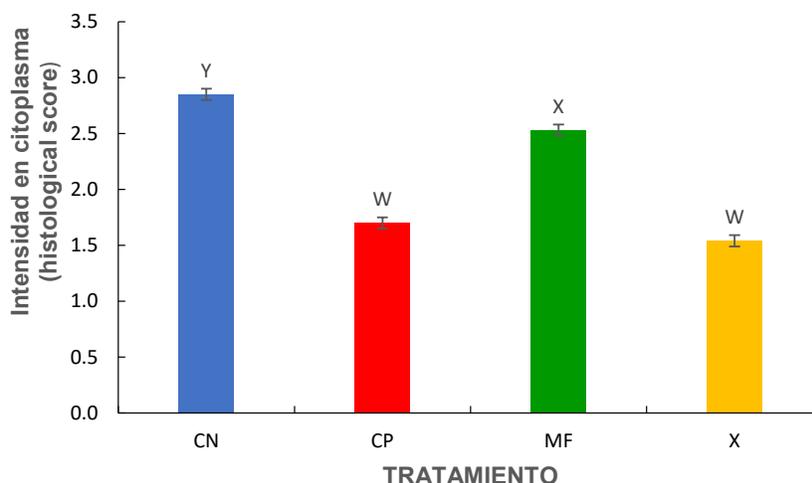


Figura 30. Efecto de la ingesta crónica de edulcorantes sobre la intensidad de ocludina en citoplasma de los enterocitos de los ratones C57BL/6. (n = 5/ grupo). (CN: agua; CP: jarabe de maíz alto en fructosa 10 %. MF/T1: extracto del fruto del monje 3 %; X/T2: xilitol 2 %). Los datos se presentan como media \pm DE. Las letras indican diferencias significativas entre los grupos: w, x, y, ($p < 0.05$).

Para la variable sexo, se demostró que la expresión de ocludina a nivel de membrana fue mayor ($p < 0.05$) en los ratones macho (~ 8.5 píxeles/área) en comparación con las hembras (Fig. 31).

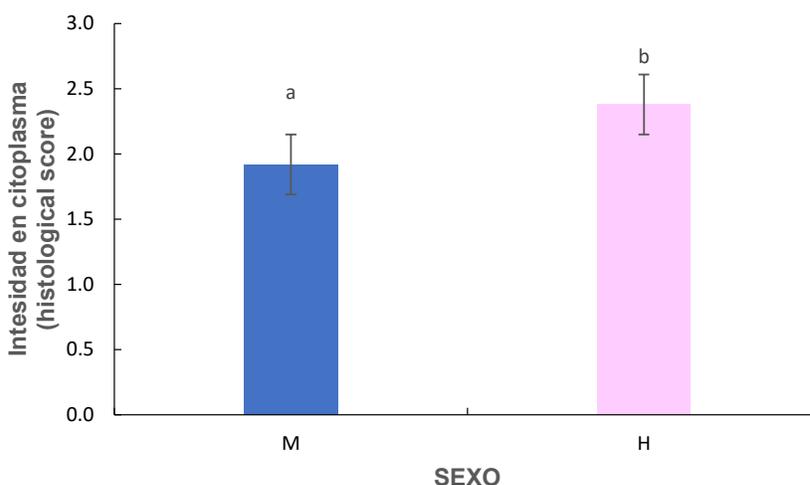


Figura 31. Efecto del sexo sobre la intensidad de ocludina en citoplasma de enterocitos de los ratones C57BL/6. (n = 5/ grupo). (H: hembra; M: macho). Los datos se presentan como media \pm DE. Las letras indican diferencias significativas entre los grupos: (a, b) ($p < 0.05$).

Derivado de los resultados obtenidos cabe destacar que estudios recientes han demostrado que los hábitos dietéticos pueden influir en la microbiota intestinal, lo

que conduce a una modulación en la permeabilidad (Cho et al., 2021). Por lo que, en el caso de los edulcorantes, el patrón es similar dado que, dependiendo de su metabolismo, su dosis y el tiempo de consumo la estabilidad de la barrera y la modulación de la permeabilidad pueden verse comprometidas, aumentando el riesgo de ingreso de toxinas y bacterias exógenas que pueden ocasionar un proceso inflamatorio (Tan et al., 2024).

Aunque el mecanismo aún se desconoce, dado que aún son pocos los edulcorantes que han sido evaluados a profundidad con este tipo de análisis, existen reportes de edulcorantes como el JMAF, los cuales reportan que su ingesta provoca la nitración proteica de las proteínas TJ y AJ intestinales, lo que resulta en un aumento de la permeabilidad intestinal y un aumento de la apoptosis de los enterocitos que contribuye a elevar los niveles de lipoproteínas en sangre y aumento del riesgo de desarrollar esteatohepatitis en ratas (Cho et al., 2021). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en nuestro estudio, dado que se observó una disminución en la expresión de ocludina, tanto a nivel de la membrana como del citoplasma, ocasionando un proceso de inflamación presente al momento de la obtención de la muestra en comparación con los otros tratamientos.

Como es el caso del X que, de acuerdo con la evidencia reciente se ha reportado una mejora en el daño estructural de las vellosidades y las criptas en el yeyuno y el ileon de ratas con diabetes, aumentando la expresión de ocludina del intestino delgado. Pero cabe mencionar que, de acuerdo con el patrón patológico de la enfermedad, la integridad de la barrera intestinal se ve comprometida la expresión de claudina y ocludina (Han et al., 2024). Por lo cual, Han et al. (2024) consideran que el X podría contribuir en la determinación de la integridad del epitelio intestinal en modelos murinos con lesión de la barrera de la mucosa intestinal inducida por la diabetes.

Sin embargo, en este estudio el X, aunque mostró resultados favorables en el mecanismo de la saciedad y el control de peso, así como en la estabilidad de la morfología intestinal durante un consumo crónico, la expresión de la ocludina no fue la mejor, ya que consideramos que una de las determinantes que `pudieron alterar su patrón de intensidad fue el proceso de fijación al momento de la obtención de la muestra. Dado que es un proceso crucial que impacta en la intensidad con la que puede marcarse

la ocludina. Aunque la estructura y su integridad de los intestinos de ratones con consumo de X al momento de la recolección fue la mejor en comparación con las otras muestras, casi similar al CN la presencia de ocludina a nivel de la membrana y el citoplasma mostró un cambio diferente al esperado.

Esto es importante, debido a que el estado de fosforilación de la ocludina está estrechamente regulado por varias quinasas. Diversos investigadores han sugerido que la fosforilación de serina/treonina es la modificación de la fosforilación predominante de la ocludina (Chelakkot et al., 2018). Así, los avances recientes han enfatizado la importancia de la fosforilación de tirosina. Por lo tanto, las quinasas como PKC y c-Src y las fosfatasas, incluidas PP2A, PP1 y PTP1B, que fosforilan y desfosforilan la ocludina, tienen un papel crucial que desempeñar en la integridad de la barrera intestinal, lo cual podría estar asociado a los resultados obtenidos en nuestro estudio, dado que en proceso de fijación en este tejido se aumentó el tiempo de exposición al fijador.

Por otro lado, se ha reportado que se necesitan dosis mayores de X (20 g/L) para que se presente un efecto favorable en la integridad de la monocapa celular y la permeabilidad paracelular, porque dosis menores a esta no mostraron ningún efecto significativo (Bellanco et al., 2024). Por lo cual, se sigue siguiendo indagando sobre este proceso dado que el X es un edulcorante que presenta una baja digestibilidad y absorción intestinal, lo que implica que una alta proporción del X consumido podría llegar a la microbiota y contribuir a una mejor integridad de la barrera intestinal, siempre y cuando se tomen en cuenta las dosis recomendadas y sus efectos secundarios.

Finalmente, los resultados obtenidos con el MF muestran una tendencia de mayor intensidad en la expresión de ocludina en los enterocitos, en comparación con los otros tratamientos, esto puede deberse al porcentaje de mogrósidos dentro de la composición del edulcorante. Lo cual, coincide de acuerdo con los resultados obtenidos en otros estudios, donde muestran que los mogrósidos presenten en el MF ejercen un efecto protector contra la colitis ulcerosa en ratones, aumentando la longitud del colon y reduciendo los niveles de citocinas proinflamatorias, así como la disminución de la permeabilidad intestinal (Tan et al., 2024). Aunado a ello, otro estudio ha reportado que la administración oral de mogrósidos (5 mg/kg/día) *in vivo* atenuó significativamente el

daño colónico patológico, inhibió la infiltración inflamatoria y mejorando la expresión anormal del inflammasoma NLRP3 en la mucosa colónica a través de las vías de señalización AMPK y NF-κB.(liang et al., 2021).

8. CONCLUSIONES

- Con base en los resultados obtenidos en este estudio se informa que la ingesta oral durante un periodo crónico del X al 2 % presenta efectos favorables para el control de peso, así como un potencial para mantener el equilibrio de la permeabilidad de la barrera intestinal en modelos murinos, los cuales fueron identificados en la morfología de los intestinos de ambos sexos.
- Respecto a los resultados obtenidos del MF al 3 % sugerimos que no es recomendable ingerir este edulcorante en periodos largos y a esta dosis, debido a que reporta alteraciones en la ganancia de peso, tanto en machos como en hembras similares al del JMAF al 10 % y aunque presenta efectos favorables en la expresión de ocludina, dadas por los mogrósidos, altera otros mecanismos como el de la saciedad. Por lo cual, se recomienda seguir indagando para conocer cómo influye en los mecanismos subyacentes de saciedad, permeabilidad y cambios en la microbiota intestinal para descartar posibles daños a la salud.
- El JMAF es el ingrediente principal de varios productos ultraprocesados y por ende la población termina consumiendo dosis mayores a las recomendadas, aunado a ello, la evidencia científica reporta cada vez más información asociada a la predisposición de enfermedades crónico-degenerativas y en este estudio no ha sido la excepción, dado que el daño es presentado a nivel del mecanismo de la saciedad y en la permeabilidad intestinal.
- Las TJ intercelulares son esenciales para el mantenimiento regulado de la función de barrera en los sistemas fisiológicos y dado su interacción con el medio su predisposición al daño aumenta sin embargo son pieza clave para conocer los mecanismos de patogenicidad y nuevas terapias para la enfermedad inflamatoria intestinal, la obesidad y otras afecciones, así como combinaciones de alimentos funcionales que permitan contrarrestar el daño.

9. CONTRIBUCIÓN CIENTÍFICA

Congreso Nacionales e Internacionales

Báez-Gutiérrez, V. Franco-Robles, E. Hernández- Guzmán, G., López- Briones, S., Ozuna, C. Relación entre el consumo crónico de xilitol y el sexo sobre la ganancia de peso en ratones C57BL/6. IX Congreso Internacional sobre Innovación y Tendencias de Procesamiento de Alimentos. Durango, México. Presentación oral.

Báez-Gutiérrez, V. Franco-Robles, E. Hernández- Guzmán, G., López- Briones, S., Ozuna, C. Efecto del consumo crónico del fruto del monje en la integridad intestinal de ratones C57BL/6. 6º Congreso Internacional de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos. Nayarit, México. Presentación oral.

Estancia Nacional

Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Patología. Evaluación inmunohistoquímica de la barrera intestinal de ratones C57BL/6 expuestos a un consumo crónico de xilitol y extracto del fruto del monje. En colaboración con la Dra. Mireya Juárez Ramírez.

10. REFERENCIAS

- Abdulqadir, R., Engers, J., & Al-Sadi, R. (2023). Role of Bifidobacterium in Modulating the Intestinal Epithelial Tight Junction Barrier: Current Knowledge and Perspectives. *Current Developments in Nutrition*, 7(12), 102026. <https://doi.org/10.1016/j.cdnut.2023.102026>
- Ban, Q., Cheng, J., Sun, X., Jiang, Y., & Guo, M. (2020). Effect of feeding type 2 diabetes mellitus rats with synbiotic yogurt sweetened with monk fruit extract on serum lipid levels and hepatic AMPK (5' adenosine monophosphate-activated protein kinase) signaling pathway. *Food & Function*, 11(9), 7696–7706. <https://doi.org/10.1039/D0FO01860K>
- Bellanco, A., Celcar, Š., Martínez-Cuesta, M. C., & Requena, T. (2024). The food additive xylitol enhances the butyrate formation by the child gut microbiota developed in a dynamic colonic simulator. *Food and Chemical Toxicology*, 187, 114605. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2024.114605>
- Bordier, V., Teyssiere, F., Schlotterbeck, G., Senner, F., Beglinger, C., Meyer-Gerspach, A. C., & Wölnerhanssen, B. K. (2021). Effect of a Chronic Intake of the Natural Sweeteners Xylitol and Erythritol on Glucose Absorption in Humans with Obesity. *Nutrients*, 13(11), 3950. <https://doi.org/10.3390/nu13113950>
- Bordier, V., Teyssiere, F., Senner, F., Schlotterbeck, G., Drewe, J., Beglinger, C., Wölnerhanssen, B. K., & Meyer-Gerspach, A. C. (2022). Absorption and Metabolism of the Natural Sweeteners Erythritol and Xylitol in Humans: A Dose-Ranging Study. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17), 9867. <https://doi.org/10.3390/ijms23179867>
- Bueno-Hernández, N., Vázquez-Frías, R., Abreu y Abreu, A. T., Almeda-Valdés, P., Barajas-Nava, L. A., Carmona-Sánchez, R. I., Chávez-Sáenz, J., Consuelo-Sánchez, A., Espinosa-Flores, A. J., Hernández-Rosiles, V., Hernández-Vez, G., Icaza-Chávez, M. E., Noble-Lugo, A., Romo-Romo, A., Ruiz-Margaín, A., Valdovinos-Díaz, M. A., & Zárata-Mondragón, F. E. (2019). Review of the

- scientific evidence and technical opinion on noncaloric sweetener consumption in gastrointestinal diseases. *Revista de Gastroenterologia de Mexico*, 84(4). <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2019.08.001>
- Camilleri, M. (2021). Human Intestinal Barrier: Effects of Stressors, Diet, Prebiotics, and Probiotics. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 12(1), e00308. <https://doi.org/10.14309/ctg.0000000000000308>
- Chelakkot, C., Ghim, J., & Ryu, S. H. (2018). Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Experimental & Molecular Medicine*, 50(8), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0126-x>
- Chen, N., Cao, W., Yuan, Y., Wang, Y., Zhang, X., Chen, Y., Yiasmin, M. N., Tristante, N. A., & Hua, X. (2024). Recent advancements in mogrosides: A review on biological activities, synthetic biology, and applications in the food industry. *Food Chemistry*, 449, 139277. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139277>
- Cho, Y., Kim, D., Seo, W., Gao, B., Yoo, S., & Song, B. (2021). Fructose Promotes Leaky Gut, Endotoxemia, and Liver Fibrosis Through Ethanol-Inducible Cytochrome P450-2E1–Mediated Oxidative and Nitrate Stress. *Hepatology*, 73(6), 2180–2195. <https://doi.org/10.1002/hep.30652>
- Cummins, P. M. (2012). Occludin: One Protein, Many Forms. *Molecular and Cellular Biology*, 32(2), 242–250. <https://doi.org/10.1128/MCB.06029-11>
- Danne, C., Michaudel, C., Skerniskyte, J., Planchais, J., Magniez, A., Agus, A., Michel, M.-L., Lamas, B., Da Costa, G., Spatz, M., Oeuvray, C., Galbert, C., Poirier, M., Wang, Y., Lapière, A., Rolhion, N., Ledent, T., Pionneau, C., Chardonnet, S., ... Sokol, H. (2023). CARD9 in neutrophils protects from colitis and controls mitochondrial metabolism and cell survival. *Gut*, 72(6), 1081–1092. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2022-326917>

- DOF. (2002). *Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.*
- ENSANUT. (2022). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición Continua 2022. Resultados de Guanajuato* (Shamah-Levy T, Ed.; 1st ed.).
- Erben, U., Loddenkemper, C., Doerfel, K., Spieckermann, S., Haller, D., Heimesaat, M. M., Zeitz, M., Siegmund, B., & Kühl, A. A. (2014). Original Article A guide to histomorphological evaluation of intestinal inflammation in mouse models. In *Int J Clin Exp Pathol* (Vol. 7, Issue 8). www.ijcep.com/
- Febbraio, M. A., & Karin, M. (2021). “Sweet death”: Fructose as a metabolic toxin that targets the gut-liver axis. *Cell Metabolism*, 33(12), 2316–2328. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.09.004>
- Gasmi Benahmed, A., Gasmi, A., Arshad, M., Shanaida, M., Lysiuk, R., Peana, M., Pshyk-Titko, I., Adamiv, S., Shanaida, Y., & Bjørklund, G. (2020). Health benefits of xylitol. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(17), 7225–7237. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10708-7>
- Goncalves, M. D., Lu, C., Tutnauer, J., Hartman, T. E., Hwang, S.-K., Murphy, C. J., Pauli, C., Morris, R., Taylor, S., Bosch, K., Yang, S., Wang, Y., Van Riper, J., Lekaye, H. C., Roper, J., Kim, Y., Chen, Q., Gross, S. S., Rhee, K. Y., ... Yun, J. (2019). High-fructose corn syrup enhances intestinal tumor growth in mice. *Science*, 363(6433), 1345–1349. <https://doi.org/10.1126/science.aat8515>
- Guo, P., Wang, H., Ji, L., Song, P., & Ma, X. (2021). Impacts of Fructose on Intestinal Barrier Function, Inflammation and Microbiota in a Piglet Model. *Nutrients*, 13(10), 3515. <https://doi.org/10.3390/nu13103515>
- Han, F., Li, X., Jin, Y., Zuo, Q., Liu, W., & Han, J. (2024). Xylitol attenuates diabetes induced intestinal permeability changes and inflammatory injury by improving intestinal tight junction protein expression and mucus secretion in rats. *CYTA - Journal of Food*, 22(1). <https://doi.org/10.1080/19476337.2024.2303447>

- Hanawa, Y., Higashiyama, M., Kurihara, C., Tanemoto, R., Ito, S., Mizoguchi, A., Nishii, S., Wada, A., Inaba, K., Sugihara, N., Horiuchi, K., Okada, Y., Narimatsu, K., Komoto, S., Tomita, K., & Hokari, R. (2021). Acesulfame potassium induces dysbiosis and intestinal injury with enhanced lymphocyte migration to intestinal mucosa. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, *36*(11), 3140–3148. <https://doi.org/10.1111/jgh.15654>
- Jin, M., Muguruma, M., Moto, M., Okamura, M., Kashida, Y., & Mitsumori, K. (2023). Thirteen-week repeated dose toxicity of *Siraitia grosvenori* extract in Wistar Hannover (GALAS) rats. *Food and Chemical Toxicology*, *45*(7), 1231–1237. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.12.030>
- Jung, S., Bae, H., Song, W.-S., & Jang, C. (2022). Dietary Fructose and Fructose-Induced Pathologies. *Annual Review of Nutrition*, *42*(1), 45–66. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-062220-025831>
- Kikuko, A., Arai, H., Takashi, U., Fukaya, M., Koganei, M., Sasaki, H., Yamamoto, H., Taketani, Y., & Takeda, E. (2011). Effects of xylitol on metabolic parameters and visceral fat accumulation. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, *49*(1), 1–7. <https://doi.org/10.3164/jcbtn.10-111>
- Kim, E. (2023). Effects of Natural Alternative Sweeteners on Metabolic Diseases. *Clinical Nutrition Research*, *12*(3), 229. <https://doi.org/10.7762/cnr.2023.12.3.229>
- Laviada, H., Almeda, P., Arellano, S., Bermúdez, A., & Cervera, M. (2017). *Posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología sobre los edulcorantes no calóricos*.
- Laviada-Molina, H., Almeda-Valdés, P., Arellano-Montaño, S., Bermúdez Gómez-Llanos, A., Antonio Cervera-Cetina, M., Cota-Aguilar, J., De La Garza-Hernández, N., Faradji-Hazán, R. N., Godínez-Gutiérrez, S., Escalante-Herrera, A., Hernández-Jiménez, S., Lavallo-González, F. J., Agustín Madero-Fernández, M., Castillo, D., Molina-Seguí, F., Leonor Pérez-Sánchez, P., De, J., Ríos-González, J., Ruiz-Cervantes, M., ... Zúñiga-González, S. A. (2017).

Posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología sobre los edulcorantes no calóricos. In *Rev Mex Endocrinol Metab Nutr* (Vol. 4). www.endocrinologia.org.mx

- Li, G., Lin, J., Zhang, C., Gao, H., Lu, H., Gao, X., Zhu, R., Li, Z., Li, M., & Liu, Z. (2021). Microbiota metabolite butyrate constrains neutrophil functions and ameliorates mucosal inflammation in inflammatory bowel disease. *Gut Microbes*, 13(1). <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1968257>
- Li, J.-M., Yu, R., Zhang, L.-P., Wen, S.-Y., Wang, S.-J., Zhang, X.-Y., Xu, Q., & Kong, L.-D. (2019). Dietary fructose-induced gut dysbiosis promotes mouse hippocampal neuroinflammation: a benefit of short-chain fatty acids. *Microbiome*, 7(1), 98. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0713-7>
- Li, Y., Guo, R., Zhang, M., Chen, P., Li, J., & Sun, Y. (2020). Protective effect of emodin on intestinal epithelial tight junction barrier integrity in rats with sepsis induced by cecal ligation and puncture. *Experimental and Therapeutic Medicine*. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8625>
- liang, H., Cheng, R., Wang, J., Xie, H., Li, R., Shimizu, K., & Zhang, C. (2021). Mogrol, an aglycone of mogrosides, attenuates ulcerative colitis by promoting AMPK activation. *Phytomedicine*, 81, 153427. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153427>
- Mahinder, P., Kumar, P., Kumar, P., Pal, P. K., Kumar, D., Warghat, A. R., & Kumar, S. (2022). Fruit derived callus and cell suspension culture as promising alternative sources for mogrosides production in *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey: a zero-caloric natural sweetener. *Journal of Food Composition and Analysis*, 108, 104450. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104450>
- Marone, P. A., Borzelleca, J. F., Merkel, D., Heimbach, J. T., & Kennepohl, E. (2008). Twenty eight-day dietary toxicity study of Luo Han fruit concentrate in Hsd:SD® rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46(3), 910–919. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.10.013>

- Mordor Intelligence. (2024). *Jarabe de maíz de alta fructosa: tamaño del mercado y análisis de acciones tendencias de crecimiento y pronósticos (2023 - 2028)*.
- Pan, J., Kim, H.-S., Beane, K., Montalbano, A., Lee, J., Kim, Y., Kim, J., Kong, B., Kim, S., Park, J.-W., Shin, E.-C., & Kim, J. (2018). IDH2 Deficiency Aggravates Fructose-Induced NAFLD by Modulating Hepatic Fatty Acid Metabolism and Activating Inflammatory Signaling in Female Mice. *Nutrients*, *10*(6), 679. <https://doi.org/10.3390/nu10060679>
- Pandey A. Chauhan O. (2020). Monk fruit (*Siraitia grosvenorii*) - health aspects and food applications. *Pantnagar Journal of Research*, *17*.
- Rahman, Md. A., & Islam, Md. S. (2014). Xylitol Improves Pancreatic Islets Morphology to Ameliorate Type 2 Diabetes in Rats: A Dose Response Study. *Journal of Food Science*, *79*(7). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12520>
- Ren, X., Xu, J., Xu, Y., Wang, Q., Huang, K., & He, X. (2023). Artemether Attenuates Gut Barrier Dysfunction and Intestinal Flora Imbalance in High-Fat and High-Fructose Diet-Fed Mice. *Nutrients*, *15*(23), 4860. <https://doi.org/10.3390/nu15234860>
- Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G., Gasbarrini, A., & Mele, M. (2019). What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms*, *7*(1), 14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>
- Ruiz-Ojeda, F. J., Plaza-Díaz, J., Sáez-Lara, M. J., & Gil, A. (2019). Effects of Sweeteners on the Gut Microbiota: A Review of Experimental Studies and Clinical Trials. *Advances in Nutrition*, *10*, S31–S48. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy037>
- Saez, A., Herrero-Fernandez, B., Gomez-Bris, R., Sánchez-Martinez, H., & Gonzalez-Granado, J. M. (2023). Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease: Innate Immune System. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(2), 1526. <https://doi.org/10.3390/ijms24021526>

- SAGARPA. (2001). *nom* 062.
<https://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF>
- Salli, K., Lehtinen, M. J., Tiihonen, K., & Ouwehand, A. C. (2019). Xylitol's Health Benefits beyond Dental Health: A Comprehensive Review. *Nutrients*, *11*(8), 1813. <https://doi.org/10.3390/nu11081813>
- Shivani, Thakur, B. K., Mallikarjun, C. P., Mahajan, M., Kapoor, P., Malhotra, J., Dhiman, R., Kumar, D., Pal, P. K., & Kumar, S. (2021). Introduction, adaptation, and characterization of monk fruit (*Siraitia grosvenorii*): a non-caloric new natural sweetener. *Scientific Reports*, *11*(1), 6205. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85689-2>
- Stephens Camacho, N. A., Valdez Hurtado, S., Lastra Zavala, G., & Félix Ibarra, L. I. (2018). Consumo de edulcorantes no nutritivos: efectos a nivel celular y metabólico. *Perspectivas En Nutrición Humana*, *20*(2), 185–202. <https://doi.org/10.17533/udea.penh.v20n2a06>
- Suzuki, T. (2020). Regulation of the intestinal barrier by nutrients: The role of tight junctions. *Animal Science Journal*, *91*(1). <https://doi.org/10.1111/asj.13357>
- Sylvetsky, A. C., Sen, S., Merkel, P., Dore, F., Stern, D. B., Henry, C. J., Cai, H., Walter, P. J., Crandall, K. A., Rother, K. I., & Hubal, M. J. (2020). Consumption of Diet Soda Sweetened with Sucralose and Acesulfame-Potassium Alters Inflammatory Transcriptome Pathways in Females with Overweight and Obesity. *Molecular Nutrition & Food Research*, *64*(11), 1901166. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201901166>
- Tan, Y.-R., Shen, S.-Y., Li, X.-Y., Yi, P.-F., Fu, B.-D., & Peng, L.-Y. (2024). Mogroside V reduced the excessive endoplasmic reticulum stress and mitigated the Ulcerative colitis induced by dextran sulfate sodium in mice. *Journal of Translational Medicine*, *22*(1), 488. <https://doi.org/10.1186/s12967-024-05285-6>

- Taylor, S. R., Ramsamooj, S., Liang, R. J., Katti, A., Pozovskiy, R., Vasan, N., Hwang, S.-K., Nahiyaan, N., Francoeur, N. J., Schatoff, E. M., Johnson, J. L., Shah, M. A., Dannenberg, A. J., Sebra, R. P., Dow, L. E., Cantley, L. C., Rhee, K. Y., & Goncalves, M. D. (2021). Dietary fructose improves intestinal cell survival and nutrient absorption. *Nature*, *597*(7875), 263–267. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03827-2>
- Todoric, J., Di Caro, G., Reibe, S., Henstridge, D. C., Green, C. R., Vrbanac, A., Ceteci, F., Conche, C., McNulty, R., Shalapur, S., Taniguchi, K., Meikle, P. J., Watrous, J. D., Moranchel, R., Najhawan, M., Jain, M., Liu, X., Kisseleva, T., Diaz-Meco, M. T., ... Karin, M. (2020). Fructose stimulated de novo lipogenesis is promoted by inflammation. *Nature Metabolism*, *2*(10), 1034–1045. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-0261-2>
- Turner, A., Veysey, M., Keely, S., Scarlett, C. J., Lucock, M., & Beckett, E. L. (2020). Intense Sweeteners, Taste Receptors, and the Gut Microbiome: A Metabolic Health Perspective. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(11), 4094. <https://doi.org/10.3390/ijerph17114094>
- Untersmayr, E., Brandt, A., Koidl, L., & Bergheim, I. (2022). The Intestinal Barrier Dysfunction as Driving Factor of Inflammaging. *Nutrients*, *14*(5), 949. <https://doi.org/10.3390/nu14050949>
- Wölnerhanssen, B. K., Cajacob, L., Keller, N., Doody, A., Rehfeld, J. F., Drewe, J., Peterli, R., Beglinger, C., & Meyer-Gerspach, A. C. (2016). Gut hormone secretion, gastric emptying, and glycemic responses to erythritol and xylitol in lean and obese subjects. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *310*(11), E1053–E1061. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00037.2016>
- Wölnerhanssen, B. K., Meyer-Gerspach, A. C., Beglinger, C., & Islam, Md. S. (2020). Metabolic effects of the natural sweeteners xylitol and erythritol: A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(12), 1986–1998. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1623757>

- Xiang, S., Ye, K., Li, M., Ying, J., Wang, H., Han, J., Shi, L., Xiao, J., Shen, Y., Feng, X., Bao, X., Zheng, Y., Ge, Y., Zhang, Y., Liu, C., Chen, J., Chen, Y., Tian, S., & Zhu, X. (2021). Xylitol enhances synthesis of propionate in the colon via cross-feeding of gut microbiota. *Microbiome*, *9*(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01029-6>
- Xiangyang, Q., Weijun, C., Liegang, L., Ping, Y., & Bijun, X. (2006). Effect of a *Siraitia grosvenori* extract containing mogrosides on the cellular immune system of type 1 diabetes mellitus mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, *50*(8), 732–738. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200500252>
- Younes, M., Aquilina, G., Engel, K., Fowler, P., Frutos Fernandez, M. J., Fürst, P., Gürtler, R., Gundert-Remy, U., Husøy, T., Mennes, W., Moldeus, P., Oskarsson, A., Shah, R., Waalkens-Berendsen, I., Wölfle, D., Degen, G., Herman, L., Gott, D., Leblanc, J., ... Castle, L. (2019). Safety of use of Monk fruit extract as a food additive in different food categories. *EFSA Journal*, *17*(12). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5921>
- Yu, S., Li, C., Ji, G., & Zhang, L. (2021). The Contribution of Dietary Fructose to Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Frontiers in Pharmacology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.783393>