Efecto del consumo de endulzantes sobre frecuencia, tamaño de comida y parámetros metabólicos en ratas Wistar

María del Rocío Padilla Galindo¹ , Alma Gabriela Martínez Moreno¹ , Zyanya Reyes Castillo¹ ,
Fatima Ezzahra Housni¹ , Erika Saenz-Pardo Reyes² .

Resumen: Efecto del consumo de endulzantes sobre frecuencia, tamaño de comida y parámetros metabólicos en ratas Wistar. **Introducción.** El consumo de bebidas endulzadas se ha incrementado de manera alarmante en las últimas décadas, lo cual se ha asociado al desarrollo de obesidad. Al respecto, la industria alimentaria ha sustituido el uso de edulcorantes calóricos por no calóricos como una medida remedial. **Objetivo.** Analizar y determinar el efecto del consumo de sacarosa y stevia sobre el peso corporal, la frecuencia, tamaño de comida y bebida y parámetros metabólicos en ratas Wistar. **Materiales y métodos.** Se utilizaron 39 ratas macho adultas divididas en tres grupos, grupo control (CG) que tuvo disponible agua y alimento estándar, grupo sacarosa (SAG) que tuvo disponible alimento y solución de sacarosa al 8% y el grupo stevia (STG) que dispuso de alimento y solución endulzada al 0,2% durante nueve semanas a libre acceso. Se registró el consumo total de alimento, agua y solución endulzada diariamente en las semanas 1 a la 8; en la semana de línea base y la semana nueve se registró la frecuencia y tamaño de comida y bebida, el peso corporal se registró semanalmente. Posteriormente tras un ayuno de 12 horas se determinaron los niveles séricos de glucosa, insulina y leptina. Los **resultados** indican que el STG fue el único grupo que perdió peso corporal, tuvo menores niveles de glucosa sérica y menor consumo de alimento respecto del CG, menores niveles de leptina sérica en comparación con el SAG ($p= 0,023$) y frecuencia y tamaño de bebida inferior al SAG. **Conclusiones.** Se concluye que la stevia líquida reducen la ingesta de alimento y bebida generando un balance energético negativo y pérdida de peso corporal en ratas. *Arch Latinoam Nutr* 2024; 74(4): 277-286.

Palabras clave: stevia, frecuencia de comida, tamaño de comida, ratas.

Abstract: Effect of sweeteners consumption on frequency, meal size and metabolic parameters in Wistar rats. **Introduction.** The consumption of sweetened beverages has increased alarmingly in recent decades, which has been associated with the development of obesity. In this regard, the food industry has replaced the use of caloric sweeteners with non-caloric sweeteners as a remedial measure. **Objective** of this study was to analyze and determine the effect of sucrose and stevia consumption on body weight, frequency, size of meal and drink, and metabolic parameters in Wistar rats. **Materials and Methods.** 39 adult male rats were used, divided into three groups: control group (CG) that had water and standard food available, sucrose group (SAG) that had food and 8% sucrose solution available, and the stevia group (STG) that had food and 0.2% sweetened solution for nine weeks with free access. Total consumption of food, water, and sweetened solution was recorded daily in weeks 1 to 8; In the baseline week and week nine, the frequency and size of meal and drink were registered, body weight was registered weekly. Subsequently glucose, insulin and leptin levels were determined. **Results.** The results indicate that the STG lost more body weight compared to the SAG and CG, lower glucose levels and less food consumption compared to the CG, lower leptin levels compared to the SAG ($p= 0.023$) and frequency and size of drink. lower than SAG. **Conclusions.** It is concluded that liquid stevia reduces food and drink intake, generating a negative energy balance and loss of body weight in rats. *Arch Latinoam Nutr* 2024; 74(4): 277-286.

Keywords: stevia, meal frequency, meal size, rats.

Introducción

El consumo de bebidas endulzadas incrementa la ingesta de energía con un casi nulo aporte de nutrientes que se ha asociado al desarrollo de enfermedades crónico degenerativas como la diabetes, obesidad, diversos tipos de cáncer y riesgo cardiovascular en la población mundial, siendo la dieta uno de los factores primordiales

¹Instituto de Investigaciones en Comportamiento Alimentario y Nutrición, Universidad de Guadalajara, Centro Universitario del Sur, Ciudad Guzmán, Jalisco, México. ²Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, Baja California, México.

Autor para la correspondencia: Alma Gabriela Martínez Moreno, e-mail: alma.martinez@cusur.udg.mx

(1,2,3). La Organización Mundial de la Salud sugiere como medida preventiva que el consumo de azúcares libres no exceda el 10% de la ingesta total de energía diaria en niños y adultos (1). El Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) evidenció que el 83,3% de la población mexicana ingiere al menos alguna bebida endulzada diariamente y que se consumen 163 litros de gaseosa al año por persona, cifra que representa 30% más respecto al consumo reportado en Estados Unidos (4).

Existe un consenso respecto a que el consumo de endulzantes calóricos en forma de bebidas (sacarosa, fructosa, jarabe de maíz de alta fructosa) incrementa la ingesta calórica y forma parte de una mala calidad de la dieta propiciando el aumento de peso corporal a expensas de tejido adiposo y elevando el riesgo de padecer diabetes (5). En respuesta a esta situación, se han generado algunas alternativas como la sustitución de los endulzantes calóricos por edulcorantes no calóricos como la Stevia en busca de disminuir el aporte calórico y por consiguiente contribuir a la reducción o mantenimiento de un peso corporal saludable (6).

Stevia se deriva de la *Stevia rebaudiana* Bertoni, una planta sudamericana nativa de Paraguay, que ha sido utilizada como endulzante desde hace más de 100 años (7,8). Varias autoridades reguladoras han evaluado la seguridad de los glicósidos de esteviol de alta pureza denominándose como GRAS por sus siglas en inglés que significa generalmente reconocido como seguro (9). Y se ha establecido que la ingesta diaria aceptable de glicósidos de esteviol es de 0-4 mg/kg/día (6).

Sin embargo, el consumo de edulcorantes no calóricos sigue siendo un tema controversial respecto a los efectos que estos pueden tener sobre diversas variables biológicas, sociales y conductuales. En sus inicios se pensó que los edulcorantes no calóricos serían una solución efectiva y contundente para contrarrestar el incremento de obesidad a nivel mundial (7). A pesar del nulo aporte energético de los edulcorantes no calóricos, los resultados se asocian a una discreta disminución en el

consumo de alimentos y energía total en personas obesas o con sobrepeso respecto del consumo de sacarosa. Por lo cual se continúan buscando edulcorantes no calóricos que den un resultado más alentador contra la epidemia de obesidad mundial, siendo la Stevia uno de los menos estudiados desde la perspectiva biológica y conductual (7,10,5).

Por lo que resulta de interés estudiar no solo la composición de los alimentos sino otras variables conductuales como la frecuencia y tamaño de comida y su relación con el consumo de edulcorantes no calóricos como la Stevia. Al respecto se ha reportado que una modificación en la frecuencia de comida tiene efecto sobre la ingesta total de energía y la composición corporal tanto en humanos como en modelos animales (11). Hasta el momento no se identificó ningún estudio realizado en modelos murinos y humanos que haya determinado la frecuencia y tamaño de comida y bebida en relación con la ingesta de stevia. Por lo que el objetivo de la presente investigación fue analizar y determinar el efecto del consumo de stevia y sacarosa sobre el peso corporal, frecuencia y tamaño de comida y bebida y parámetros metabólicos en ratas Wistar.

Materiales y métodos

Sujetos

Se utilizaron 39 ratas macho adultos de la cepa Wistar, asignados a un grupo control (CG), grupo sacarosa (SAG) o grupo stevia (STG). Los sujetos estuvieron alojados en gabinetes individuales y mantenidos en ciclos de 12 horas de luz-oscuridad (7:00 am - 7:00 pm); con 22 +/- 1°C de temperatura ambiental. Así mismo, todos los procedimientos estuvieron apegados a los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-200-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. El protocolo de investigación fue aprobado por el comité de ética del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA/CEIC/CE/007/2018) y la fase experimental se llevó a cabo de diciembre de 2019 a febrero de 2020.

Consumo de alimento y bebida y peso corporal

Se utilizó alimento para roedores marca Rodent Chow 5001, que contiene 23% proteínas, 4,5% grasas, 6,0%

fibra, 46,5% extracto libre de nitrógeno, vitaminas, minerales y proporciona 3,06 calorías/g. Se utilizó agua potable, sacarosa estándar y stevia líquida al 95% de pureza de la marca bonda stevia. El CG recibió alimento estándar y agua potable a libre acceso, al SAG se le proporcionó alimento y solución de sacarosa al 8% a libre acceso, el STG tuvo alimento y solución de stevia al 0,2% (0,2 ml/100 ml) a libre acceso, la dosis de stevia se estableció mediante una prueba piloto de preferencia y aceptación para garantizar el consumo de líquido promedio para roedores y evitar deshidratación, estas condiciones se mantuvieron durante ocho semanas, los consumos se registraron diario y el peso corporal semanal.

Frecuencia y tamaño de comida y bebida

Se emplearon 13 cajas de análisis experimental para bioterio fabricados por la empresa Omnia dedicada a la ingeniería e innovación aplicada a la industria e investigación biomédica, hechos de metal con ventilación y trampa de luz, iluminación de 180 luxes. Cierre con sello de hule y cerradura de tres puntos con llave, temporizador y herrajes para sistema de registro de ingesta de alimentos y agua. Durante la semana de línea base y la semana 9 del experimento, los sujetos fueron colocados en las cajas de análisis experimental para registrar la frecuencia, entendida como el número de comidas realizadas; una comida se definió como el consumo de al menos 1 gramo y tamaño de la comida, entendida como la cantidad en gramos ingerida en cada episodio alimentario.

El registro del consumo de alimento y bebida se obtuvo a intervalos de 1 minuto por medio de los sensores de las cajas, el proceso de recolección de datos comenzaba a las cero horas de cada día del experimento. La aplicación SPAD generó un archivo identificado por el día, el mes y el año de cada una de las trece cajas. Al finalizar las sesiones diarias, se hacía el cierre del archivo y se almacenaba en el disco duro.

Sacrificio, extracción de muestras y determinación de parámetros metabólicos

Se sacrificó mediante cámara de CO₂, se colectó la muestra sanguínea arterial en tubos de vacío Vacutest KIMA incubados a 37°C durante 30 minutos. Posteriormente se centrifugó (10 minutos a 2500 rpm) en un equipo Science Med modelo DM0412S, una vez

obtenido el suero se separaron 3 alícuotas de 200 microlitros de cada sujeto que fueron utilizadas para la determinación de los parámetros metabólicos de glucosa, leptina e insulina.

La glucemia fue determinada a través de la técnica de química seca con un equipo analizador automático VITROS® 250 Ortho-Clinical Diagnostics y kit VITROS® microslides. Para leptina e insulina sérica se realizó mediante una ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) de tipo sándwich (marca Sigma-Aldrich, RAB0335 y RAB0904, Saint Louis, MO, USA).

Análisis estadístico

Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para determinar la normalidad de los datos. Se determinaron las diferencias entre grupos mediante el análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba Bonferroni post hoc para los datos paramétricos. Para los datos no paramétricos se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis seguido de una prueba de Dunn-Bonferroni post-hoc. Se estableció un valor de $p < 0,05$ para considerar significativas las diferencias. Se utilizó el programa SPSS software, versión 21.0.

Resultados

Se comparó el consumo de alimento, bebida e ingesta energética. En el panel A de la Figura 1 se observó que el grupo SAG consumió menos alimento de forma significativa respecto al grupo control y STG ($p < 0,001$). El STG tuvo un consumo de alimento menor en comparación con el CG ($p < 0,001$). En el panel B se muestra el consumo de bebida; se observó que el SAG consumió mayor volumen de bebida que los demás grupos ($p < 0,001$), mientras que entre el STG y CG no se encontró diferencia significativa. En el panel C se observó que el SAG tuvo el mayor consumo calórico respecto del resto de los grupos ($p < 0,001$).

Figura 1. Consumo de alimento, bebida e ingesta energética en ratas Wistar sometidas al consumo de stevia y sacarosa

Nota: valores expresados en medias grupales ± desviación estándar. Significancia estadística a partir de $p < 0,05$ obtenida mediante la prueba de Kruskal-Wallis. a: diferencia significativa entre sacarosa y control, b: diferencia significativa entre sacarosa y stevia y c: diferencia significativa entre stevia y control.

Figura 2. Frecuencia y tamaño de comida y bebida en ratas Wistar sometidas al consumo de stevia y sacarosa

Nota: valores expresados en medias grupales ± desviación estándar. Significancia estadística a partir de $p < 0,05$, para la frecuencia y tamaño de comida inicial y final y tamaño de bebida inicial y final se aplicó el análisis de varianza (ANOVA). Para la frecuencia de bebida inicial y final se realizó la prueba de Kruskal-Wallis. a: diferencia significativa entre sacarosa y control, b: diferencia significativa entre sacarosa y stevia y c: diferencia significativa entre stevia y control.

Figura 3. Peso corporal y ganancia de peso corporal en ratas Wistar sometidas al consumo de stevia y sacarosa

Nota: valores expresados en medias grupales $\pm$ desviación estándar. Significancia estadística a partir de $p < 0,05$ obtenida mediante análisis de varianza (ANOVA). a: diferencia significativa entre sacarosa y control, b: diferencia significativa entre sacarosa y stevia y c: diferencia significativa entre stevia y control. Para la ganancia de peso corporal se realizó la prueba de Kruskal-Wallis.

Frecuencia y tamaño de comida y bebida

Para realizar el análisis, se incluyó la medición de los primeros cinco días de ingreso a los gabinetes (fase inicial) y los últimos cinco días en los gabinetes (fase final). Las comparaciones se hicieron entre los grupos. En la Figura 2 se muestra que no se encontraron diferencias significativas entre grupos en la fase inicial en la frecuencia de comida y bebida y tamaño de comida y bebida. Se encontró menor frecuencia de comida final en SAG respecto del CG ($p = 0,027$), mientras que para la bebida el grupo sacarosa presentó un incremento tanto en la frecuencia como en el tamaño final ($p < 0,001$) respecto del CG y STG.

Peso corporal y ganancia de peso

En el panel A de la Figura 3 se observa que no hubo diferencias significativas en el peso corporal inicial entre todos los grupos. En el peso corporal final (panel B) existe diferencia significativa entre el SAG respecto del CG y STG ($p = 0,003$). Sin embargo, en la ganancia de peso corporal (panel C) se observa que el STG tuvo una pérdida significativa respecto del grupo SAG y CG ($p = 0,001$).

Parámetros metabólicos

En la Figura 4 se muestran los niveles de

Figura 4. Niveles de glucosa, leptina e insulina en ratas Wistar sometidas al consumo de stevia y sacarosa

Nota: valores expresados en medias grupales $\pm$ desviación estándar. Significancia estadística a partir de $p < 0,05$ obtenida mediante la prueba de Kruskal-Wallis. a: diferencia significativa entre sacarosa y control, b: diferencia significativa entre sacarosa y stevia y c: diferencia significativa entre stevia y control

glucosa sérica (panel A). El STG mostró menores niveles respecto del CG ($p= 0,003$). En los niveles de leptina sérica (panel B) el SAG tuvo mayores niveles respecto del STG ($p= 0,023$). En los niveles de insulina sérica no se observaron diferencias significativas (panel C).

Discusión

La obesidad es un problema de salud pública. Algunos factores que contribuyen al desarrollo de obesidad en los adultos y en los niños son: 1) la falta de actividad física, 2) los factores genéticos y 3) conductas alimentarias, como la ingesta excesiva de edulcorantes calóricos incluyendo a la sacarosa (12). El consumo de sacarosa se ha considerado como uno de los principales responsables del aumento en la incidencia de la obesidad y el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles como hipertensión, diabetes y dislipidemias (13,14,15). Los resultados obtenidos indican que las ratas que consumieron sacarosa tuvieron una mayor ingesta energética total, en su mayoría proveniente de la bebida lo cual derivó en un balance energético positivo y ganancia de peso corporal independientemente de que disminuyeron el consumo de alimento (16,17,18). Respecto al consumo de stevia las ratas presentaron una menor ingesta de alimento respecto del grupo control, resultados que coinciden con lo publicado por otras investigaciones en las que se utilizaron stevia en forma líquida y de alta pureza (17,18). Lo que podría sugerir que el consumo de stevia no estimula el hambre, aunque los mecanismos específicos por los cuales lo hace no se han descrito de forma específica hasta el momento (17).

La preferencia hacia las bebidas endulzadas es innata además de la recompensa que proporciona ante el placer percibido tras su consumo lo cual se ha establecido evolutivamente elevando las posibilidades de supervivencia de los individuos (19,20), determinando así el consumo o evitación de alimentos o bebidas (21). La conducta alimentaria, se reconoce como posible

mediador de la epidemia de obesidad, al inducir preferencias por alimentos considerados no saludables y fomentar su ingesta excesiva. Algunos autores señalan que los individuos con hipersensibilidad del sistema de recompensa encuentran mayor reforzamiento en la comida, sobreponiéndose a las señales de mantenimiento del balance energético y por ello tienen el riesgo de sobrealimentarse y desarrollar obesidad (21,22)

El consumo de soluciones que aportan energía en animales que reciben simultáneamente alimento estándar, como ocurrió en este estudio; no depende de un estado de depleción de energía. De manera que la recompensa alimentaria es determinada por estímulos orales como el sabor dulce y que pueden anular la regulación homeostática del balance energético (23,24). O bien, podría evidenciarse el balance energético al disminuir el consumo de alimento, pero no de la bebida azucarada. Como se observó en este estudio ya que la ingesta de sacarosa incrementó la frecuencia y tamaño de bebida, que, a su vez, modula la ingesta de alimento sólido caracterizada por una disminución en la frecuencia y tamaño de comida.

Respecto a las variables conductuales evaluadas como la frecuencia y tamaño de comida y bebida, es importante mencionar que no se encontró ningún estudio que haya evaluado estas variables con la ingesta de stevia en ninguna de sus presentaciones (líquida y granulada). Al respecto, nuestros resultados indicaron que no existe diferencia en el tamaño de comida final entre ninguno de los grupos, mientras que en la frecuencia de comida final fue menor para el grupo sacarosa respecto del grupo control. En cuanto a la frecuencia y tamaño de bebida ambas fueron significativamente mayores en el grupo sacarosa respecto del resto de los grupos, mientras que entre el grupo control y grupo stevia no hubo diferencias. Por lo que, en función de nuestros resultados, el consumo de stevia reduce la frecuencia y tamaño de comida respecto del consumo de sacarosa. La medición de estas variables resulta prometedora para conocer más acerca de cómo la conducta alimentaria puede modelar los efectos de los endulzantes en el estado nutricional de los organismos. De igual forma, es un nuevo camino para explorar los procesos de regulación que se llevan a cabo y que, posiblemente, pueden explicar la falta de efecto en el peso corporal.

En el caso de bebidas endulzadas con sacarosa la

ingesta se triplica lo que se podría equiparar a un episodio de atracón. Los atracones están caracterizados por la ingesta de alimento o bebida en grandes cantidades en un determinado periodo de tiempo, estos se han asociado al desarrollo de trastornos de la conducta alimentaria. En modelos murinos se induce con la exposición a estrés y restricción de alimentos, así como a la exposición intermitente de un alimento palatable (25,26). Sin embargo, en esta investigación la exposición continua a la solución de sacarosa generó conductas de atracón en la bebida caracterizado por el incremento en la frecuencia y tamaño de la bebida. Lo que conlleva a proponer estas variables dentro de la definición de atracón, dado que su medición puede ampliar la caracterización de este fenómeno en la conducta alimentaria de ratas.

El estudio de variables conductuales y biológicas permiten ampliar la explicación de los fenómenos relacionados con la ingesta de alimento, balance energético y regulación del peso corporal por lo cual se consideró la medición de parámetros metabólicos como glucosa, leptina e insulina. Los resultados indicaron que el STG tuvo menores niveles de glucosa respecto del CG de forma significativa, esto podría explicarse por la capacidad que tiene la stevia de actuar a nivel del tracto intestinal como un ligando para los receptores de insulina incrementando su secreción (27). Así mismo se ha propuesto que la stevia podría mejorar la sensibilidad a la insulina ya que modula la activación de la vía PI3K/Akt mejorando la absorción de la glucosa mediante la translocación de transportadores de glucosa a la membrana celular, como se ha descrito anteriormente (28-30).

En los niveles de leptina los resultados indicaron que el consumo de sacarosa incrementa los niveles plasmáticos de leptina respecto del grupo que consumió stevia, sin embargo, no mostró diferencia con el CG, La leptina es considerada una hormona importante en la regulación de la ingesta alimentaria por sus efectos anorexigénicos mediante la activación de POMC y CART, además se ha identificado su participación sobre el metabolismo incrementando el gasto calórico gracias a la activación de la vía de las JAK/STAT (31,32). Así mismo los niveles circulantes de leptina están asociados a la cantidad de tejido adiposo de los sujetos, por lo que el incremento en los niveles de leptina en los sujetos que consumieron sacarosa podría estar relacionado con el incremento de peso corporal y el desarrollo de resistencia a la leptina por alteración en la síntesis de receptores de leptina y su transportación hacia los núcleos hipotalámicos

arcuato y paraventricular en donde ejerce su acción anorexigénica (14,31).

Se ha reportado que los niveles altos de leptina interfieren en la activación del sistema de recompensa del área tegmental ventral y sustancia negra (33). El cómo puede interferir la relación de la leptina y el sistema de recompensa radica en el comportamiento que emiten los sujetos asociados a características de los alimentos como el sabor y olor (34). Al respecto, un estudio realizado en ratas demostró que el consumo de dosis bajas de rebaudiósido A redujo los niveles de ARNm de tirosina hidroxilasa y transportadores de dopamina en el núcleo accumbens, indicadores asociados al sistema de recompensa mesolímbico-dopaminérgico y búsqueda de alimento, además de alterar la composición de la microbiota la cual interactúa con el cerebro en la regulación de las hormonas relacionadas con el hambre y la saciedad (35). Sin embargo, las alteraciones en la síntesis de péptidos intestinales y composición de la microbiota varían en función del edulcorante utilizado y el tiempo de exposición (36,37).

Lo anterior sugiere que el tipo de endulzante utilizado, la concentración, la pureza, el tiempo y forma de exposición pueden estar relacionados con la controversia en los resultados obtenidos hasta el momento. En el caso de la stevia, es importante mencionar que el contenido de stevia en marcas comerciales (gránulos) es reducido y además se encuentra mezclado con otras sustancias como eritritol, glucosa, fructosa, sucralosa, entre otros. Por lo que los efectos obtenidos cuando se utilizan mezclas de edulcorantes no podrían atribuirse únicamente a la stevia.

Fortalezas

Una de las fortalezas de este estudio es que se utilizó un extracto acuoso de stevia de alta pureza; adicionalmente, el tiempo de exposición en la presente investigación fue superior al promedio de los estudios identificados, además de que los animales no tuvieron otra opción de bebida lo que garantizó el consumo de la solución y eliminó

la posibilidad de que el efecto encontrado se pueda relacionar a otra sustancia. A la fecha no se identificó otro estudio en el cual se hayan evaluado frecuencia y tamaño de comida y bebida respecto al consumo de stevia en lo cual recae gran parte de la relevancia del presente estudio.

Limitaciones

El número de sujetos utilizados por grupo y el incluir solo machos pueden considerarse como limitaciones. Es pertinente considerar replicar el estudio con hembras para comparar los resultados obtenidos. Otra limitación fue el uso de una concentración de stevia de alta pureza, mientras que la literatura menciona que a mayor dosis de stevia se observan mayores efectos y que la pureza y composición del extracto podría estar interviniendo en la controversia de los resultados. Por lo tanto, resulta de interés realizar más estudios utilizando un mayor número de sujetos, diferentes concentraciones y composiciones del sustrato de stevia. Además, se sugieren también ensayos clínicos aleatorizados en seres humanos.

Conclusiones

El consumo de stevia disminuyó la ingesta total de alimento y energía que derivó en la pérdida de peso corporal, adicionalmente mostró un mejor control de la glucemia y los niveles séricos de leptina. El aporte calórico y el efecto hedónico generado por el consumo de sacarosa incrementó en la frecuencia y tamaño de bebida con la consecuente disminución de la frecuencia de comida sin modificar el tamaño de cada evento. Por lo que resulta de interés seguir realizando estudios que contemplen estas dimensiones de la conducta alimentaria respecto al consumo de endulzantes, considerando ambos sexos y tiempos prolongados de exposición en modelos animales.

Agradecimientos

Esta investigación fue apoyada por la beca del Doctorado en Ciencia del Comportamiento con Orientación en Alimentación y Nutrición, número 502412, otorgada por el Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT), México.

Conflicto de intereses

Las autoras declaran que no existe conflicto de interés

Referencias

1. Gómez-Delgado F, Torres-Peña JD, Gutiérrez-Lara G, Romero-Cabrera JL, Pérez-Martínez P. Artificial sweeteners and cardiovascular risk. *Curr Opin Cardiol.* 2023;38(4): 344–351. <https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000001048>
2. Guo A, Wide U, Arvidsson L, Eiben G, Hakeberg M. Dietary intake and meal patterns among young adults with high caries activity: a cross-sectional study. *BMC Oral Health.* 2022;22(1):190. <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02227-w>
3. Vik FN, Næss IK, Heslien KEP, Øverby NC. Possible effects of a free, healthy school meal on overall meal frequency among 10-12-year-olds in Norway: the School Meal Project. *BMC Res Notes.* 2019;12(1):382. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4418-6>
4. Arias Cabanillas AC, Noris Quintero AA, Ortiz Brambila MG, Leyva López NK. Frecuencia del consumo de bebidas azucaradas en una población universitaria con conocimientos sobre salud en México. *Nutr Clín Diet Hosp.* 2024;44(1). <https://doi.org/10.12873/441arias>
5. Stamataki NS, Crooks B, Ahmed A, McLaughlin JT. Effects of the daily consumption of stevia on glucose homeostasis, body weight, and energy intake: a randomised open-label 12-week trial in healthy adults. *Nutrients.* 2020;12(10):3049. <https://doi.org/10.3390/nu12103049>
6. Kurek JM, Król E, Krejpcio Z. Steviol glycosides supplementation affects lipid metabolism in high-fat fed STZ-induced diabetic rats. *Nutrients.* 2020;13(1):112. <https://doi.org/10.3390/nu13010112>
7. Farhat G, Berset V, Moore L. Effects of stevia extract on postprandial glucose response, satiety and energy intake: a three-arm crossover trial. *Nutrients.* 2019;11(12):3036. <https://doi.org/10.3390/nu11123036>
8. Iatridis N, Kougioumtzi A, Vlataki K, Papadaki S, Magklara A. Anti-cancer properties of Stevia rebaudiana; more than a sweetener. *Molecules.* 2022;27(4):1362. <https://doi.org/10.3390/molecules27041362>

9. Ashwell M. Stevia, nature's zero-calorie sustainable sweetener: a new player in the fight against obesity. *Nutr Today*. 2015;50(3):129-134. <https://doi.org/10.1097/NT.0000000000000094>
10. Mullee A, Romaguera D, Pearson-Stuttard J, Viallon V, Stepien M, Freisling H, et al. Association between soft drink consumption and mortality in 10 European countries. *JAMA Intern Med*. 2019;179(11):1479-1490. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2019.2478>
11. Raynor HA, Goff MR, Poole SA, Chen G. Eating frequency, food intake, and weight: a systematic review of human and animal experimental studies. *Front Nutr*. 2015; 2:38. <https://doi.org/10.3389/fnut.2015.00038>
12. Villanueva-Gutierrez SK, Villegas-Sepulveda N, Olmedo-Buenrostro BA, Virgen-Ortiz A, Palacios-Fonseca AJ, López-Alcaraz F, et al. Análisis comparativo del consumo crónico de agua endulzada con sacarosa o estevia con respecto al peso corporal, la cantidad de alimento consumido y el desarrollo de diabetes y dislipidemias en ratas Wistar. *Temas de Ciencia y Tecnología*. 2017;21 (62): 30-8
13. Bigos A, Pałkowska E, Rosołowska-Huszcz D. Effect of artificial and natural sweeteners on glucose and insulin in plasma of rats. *J Pre-Clin Clin Res*. 2012;6(2):93-97. <https://www.jpccr.eu/pdf-71416-8648?filename=Effect%20of%20artificial%20and.pdf>
14. Mitsutomi K, Masaki T, Shimasaki T, Gotoh K, Chiba S, Kakuma T, et al. Effects of a nonnutritive sweetener on body adiposity and energy metabolism in mice with diet-induced obesity. *Metabolism*. 2014;63(1):69-78. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2013.09.002>
15. Olalde ML, Orozco AM, Aguilar GB, García GT, Romero MR, Anaya LM, et al. Consumo de edulcorantes artificiales no nutritivos en variables antropométricas e ingesta de macronutrientes en estudiantes universitarios. *Digital Ciencia@UAQro* 2015; 1:1-10. https://www.uaq.mx/investigacion/revista_ciencia@uaq/ArchivosPDF/v8-n2/6-CN.pdf
16. Ahmad U, Ahmad RS, Arshad MS, Mushtaq Z, Hussain SM, Hameed A. Antihyperlipidemic efficacy of aqueous extract of Stevia rebaudiana Bertoni in albino rats. *Lipids Health Dis*. 2018;17(1):175. <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0810-9>
17. Ahmad U, Ahmad RS. Anti diabetic property of aqueous extract of Stevia rebaudiana Bertoni leaves in streptozotocin-induced diabetes in albino rats. *BMC Complement Altern Med*. 2018;18(1):179. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2245-2>
18. Padilla M, Housni F, Martínez M, Reyes Z, Cárdenas A, Saenz-Pardo E. Effect of stevia and fructose on food intake, body weight gain and metabolic parameters in rat. *Indian J Anim Res*. 2019;1-4. <https://doi.org/10.18805/ijar.B-1121>
19. Kendig MD, Fu MX, Rehn S, Martire SI, Boakes RA, Rooney KB. Metabolic and cognitive improvement from switching to saccharin or water following chronic consumption by female rats of 10% sucrose solution. *Physiol Behav*. 2018; 188:162-172. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.02.008>
20. Steiner JE, Glaser D, Hawilo ME, Berridge KC. Comparative expression of hedonic impact: affective reactions to taste by human infants and other primates. *Neurosci Biobehav Rev*. 2001;25(1):53-74. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(00\)00051-8](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(00)00051-8)
21. Galindo A, López-Espinoza A. Efectos del sabor y del contenido calórico del agua sobre la conducta alimentaria durante un período de privación de comida en ratas albinas. *Rev Mex Anal Conducta*. 2006;32(2):95-109. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=59332202>
22. Moore CF, Leonard MZ, Micovic NM, Miczek KA, Sabino V, Cottone P. Reward sensitivity deficits in a rat model of compulsive eating behavior. *Neuropsychopharmacology*. 2020;45(4):589-596. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0550-1>
23. Stern SA, Doerig KR, Azevedo EP, Stoffel E, Friedman JM. Control of non-homeostatic feeding in sated mice using associative learning of contextual food cues. *Mol Psychiatry*. 2020;25(3):666-679. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0072-y>
24. Edwin Thanarajah S, DiFeliceantonio AG, Albus K, Kuzmanovic B, Rigoux L, Iglesias S, et al. Habitual daily intake of a sweet and fatty snack modulates reward processing in humans. *Cell Metab*. 2023;35(4):571-584.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2023.02.015>
25. Smail-Crevier RL, Maracle AC, Wash SIJ, Olmstead MC. Binge-like intake of sucrose reduces the rewarding value of sucrose in adult rats. *Physiol Behav*. 2018; 194:420-429. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.06.027>
26. Smyers ME, Koch LG, Britton SL, Wagner JG, Novak CM. Enhanced weight and fat loss from long-term intermittent fasting in obesity-prone, low-fitness rats. *Physiol Behav*. 2021; 230:113280. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113280>
27. Orellana-Paucar AM. Steviol glycosides from Stevia rebaudiana: an updated overview of their sweetening activity, pharmacological properties, and safety aspects. *Molecules*. 2023;28(3):1258. <https://doi.org/10.3390/molecules28031258>
28. Prata C, Zambonin L, Rizzo B, Maraldi T, Angeloni C, Vieceli Dalla Sega F, Fiorentini D, Hrelia S. Glycosides from Stevia rebaudiana Bertoni possess insulin-mimetic and antioxidant activities in rat cardiac fibroblasts. *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 2017:3724545. <https://doi.org/10.1155/2017/3724545>

29. Salehi B, López MD, Martínez-López S, Victoriano M, Sharifi-Rad J, Martorell M, et al. Stevia rebaudiana Bertoni bioactive effects: from *in vivo* to clinical trials towards future therapeutic approaches. *Phytother Res.* 2019;33(11):2904–2917. <https://doi.org/10.1002/ptr.6478>
30. Zeng Y, Zhang L, Hu Z. Cerebral insulin, insulin signaling pathway, and brain angiogenesis. *Neurol Sci.* 2016;37(1):9–16. <https://doi.org/10.1007/s10072-015-2386-8>
31. Liu J, Lai F, Hou Y, Zheng R. Leptin signaling and leptin resistance. *Med Rev.* 2022;2(4):363–384. <https://doi.org/10.1515/mr-2022-0017>
32. Gruzdeva O, Borodkina D, Uchasova E, Dyleva Y, Barbarash O. Leptin resistance: underlying mechanisms and diagnosis. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2019; 12:191–198. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S182406>
33. Harris RBS. Development of leptin resistance in sucrose drinking rats is associated with consuming carbohydrate-containing solutions and not calorie-free sweet solution. *Appetite.* 2019; 132:114–121. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2018.10.015>
34. Pénicaud L, Meillon S, Brondel L. Leptin and the central control of feeding behavior. *Biochimie.* 2012;94(10):2069–2074. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.04.013>
35. Nettleton JE, Klancic T, Schick A, Choo AC, Shearer J, Borgland SL, et al. Low-dose stevia (Rebaudioside A) consumption perturbs gut microbiota and the mesolimbic dopamine reward system. *Nutrients.* 2019;11(6):1248. <https://doi.org/10.3390/nu11061248>
36. Hunter SR, Reister EJ, Cheon E, Mattes RD. Low calorie sweeteners differ in their physiological effects in humans. *Nutrients.* 2019;11(11):2717. <https://doi.org/10.3390/nu11112717>
37. Kasti AN, Nikolaki MD, Synodinou KD, Katsas KN, Petsis K, Lambrinou S, et al. The Effects of Stevia Consumption on Gut Bacteria: Friend or Foe? *Microorganisms.* 2022; 10(4):744. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040744>

Recibido: 17/07/2024
Aceptado: 29/11/2024