



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MEXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

“Evaluación del efecto del consumo de extracto de Stevia y Acesulfame-K en Núcleo Accumbens y estriado de ratas macho adolescentes de la cepa Wistar mediante inmunoreactividad a Δ FosB”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

P R E S E N T A

LUIS ANGEL LOPEZ MUCIÑO

Tutor académico:

Dr. Pedro Sánchez Aparicio

Tutores adjuntos:

Dr. Arturo Venebra Muñoz
Dr. Sergio Recillas Morales

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México

Año 2019



DEDICATORIAS

A mi madre, por preocuparse tanto, siempre, y ser un apoyo emocional.

A mi padre, por su apoyo a pesar de sus enojos.

A mis hermanos, por estar siempre juntos.

A mi cuñada Yajis, porque ya es más grande más grande mi familia.

Y por supuesto, a Sofi.

...

Al Profesor Roberto, porque en algún punto comenzó todo.



RESUMEN

A pesar de que se ha observado que alimentos dulces producen uno o más efectos similares a las drogas de abuso, se sugiere que los edulcorantes no nutritivos no activan las vías de recompensa de la misma forma en que lo hacen los edulcorantes nutritivos debido a una disociación existente entre el sabor y el contenido calórico. El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad neuronal de ciertas áreas de la vía mesolímbica de recompensa inducida por el consumo de edulcorantes no calóricos, mediante la detección del factor de transcripción Δ FosB. Esta proteína, miembro de la familia Fos, se acumula gradualmente hasta convertirse en la proteína Fos dominante en el NAc y estriado dorsal como resultado de una administración prolongada de drogas y debido a su estabilidad persiste en estas regiones durante semanas o meses, se ha sugerido que el factor de transcripción Δ FosB es necesario para mediar la sensibilidad a drogas e incrementar la compulsión por la conducta de recompensa. Para este trabajo se utilizaron ratas macho adolescentes de la cepa Wistar divididos en 5 grupos, un control que sólo consumió agua y los grupos restantes contaron con acceso a una solución de edulcorante no calórico (extracto de Stevia 0.2% o Acesulfame-K 0.2%) bajo dos condiciones de consumo distintas (obligado y libre elección) desde los 30 hasta los 50 días postnatales. Los resultados obtenidos indicaron que la concentración elegida para la solución de extracto de stevia 0.2% fue preferida a partir del segundo día, aunque no fue lo suficientemente gratificante para promover el consumo excesivo de líquidos. Por otro lado, no se observó una preferencia de Acesulfame-K pero tampoco se puede determinar que existió aversión pues el consumo de agua y Acesulfame-K dentro del grupo de elección libre fue prácticamente el mismo durante los 20 días. Sumado a esto, no se observó que el consumo de alguno de los dos NNS utilizados en este experimento promoviera la ganancia de peso o el consumo de alimento para compensar la deficiencia calórica de los alimentos dulces. En cuanto a la inmunorreactividad dentro del sistema de recompensa se encontró que solamente la solución de extracto de stevia promovió la sobre expresión de Δ FosB en dos regiones del núcleo accumbens y estriado dorsal dentro del grupo de elección libre, sugiriendo que las diferencias en la expresión entre tratamientos están influenciadas por las propiedades hedónicas del alimento y no por las características físicas de los alimentos *per se*.



ABSTRACT

Although sweet foods are known to activate the same mesolimbic reward pathway as recreational drugs a partial activation of the reward pathway by artificial sweeteners has been hypothesized due to sweetness decoupled from caloric content. The objective of this work was to evaluate neural activity induced by non-nutritive sweeteners intake in a set of brain regions within the reward pathway by detecting the transcription factor Δ FosB, a protein member of the Fos family that gradually accumulates in the nucleus accumbens and dorsal striatum becoming the predominant Fos protein after repeated drug administration due to its greater stability and persists in these regions for weeks or months after drug exposure ceases, so it seems that Δ FosB is essential in drug sensitization and enhances reward drive. In this study we used adolescent Wistar rats divided in 5 groups, the control group had only access to water, and the remaining groups counted with access to a non-nutritive sweetener solution (0.2% Stevia extract or 0.2% Acesulfame-K) under two different conditions (free choice and forced) from postnatal day 30 to 50. The results showed that chosen 0.2% stevia extract solution was preferred from day two, although stevia did not promote overdrinking suggesting it was not rewarding enough. On the other hand, a preference for 0.2% Acesulfame-K was not observed but aversion could not be settled either given that water and 0.2% Acesulfame-K consumption was practically the same in the free choice group through all the time. Further, neither Stevia nor Acesulfame promoted overweight or food intake to compensate caloric deficiency. Finally, immuno-reactivity to Δ FosB was only enhanced in nucleus accumbens and dorsal striatum in the free choice group that consumed 0.2% stevia extract solution, suggesting that induction of Δ FosB is due to food hedonic properties rather than physical properties *per se*.



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Pedro Sánchez Aparicio por la confianza, y sobre todo la paciencia. Porque sin todo su aporte esto no habría sido posible.

Al Dr. Arturo Venebra porque además de darme la oportunidad de ser parte de un equipo de trabajo también se formó una amistad.

Al Dr. Sergio Recillas por su contribución y orientación.

Al M. en C. Andrés Guadarrama por el aporte material y orientación.

A Vero, porque muchas cosas no habrían sido posibles sin su ayuda.

A Yvette, por la ayuda técnica.

A Nadi y a Dani, porque formamos un buen equipo estos dos años. Pero sobre todo a Nadi porque fue parte esencial en muchos momentos del proyecto.

A Carlos y Uriel por hacer más cómodos esos dos años.

A Vicky, por su invaluable apoyo y soportar tanto.

A todos mis compañeros de laboratorio, Oli, Philli, Julia, Reyna, Sara.

Y en especial gracias a CONACYT por el apoyo económico otorgado.



CONTENIDO

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
ÍNDICE DE FIGURAS	9
INTRODUCCIÓN	11
REVISIÓN DE ANTECEDENTES	12
1. EDULCORANTES	12
1.1 <i>GLUCÓSIDOS DE STEVIOL</i>	14
1.2 <i>ACESULFAME-K (ACESULFAME POTÁSICO)</i>	16
2. VÍA SENSORIAL DEL SABOR	18
3. MECANISMOS NEURONALES EN LA RECOMPENSA ALIMENTICIA	19
3.1 <i>SISTEMA DE RECOMPENSA</i>	19
3.2 <i>SISTEMA MESOLIMBICO DOPAMINÉRGICO. ANATOMÍA Y NEUROTRANSMISORES</i>	21
3.3 <i>FUNCIONES DEL SISTEMA MESOLÍMBICO DOPAMINÉRGICO EN LA RECOMPENSA</i>	24
4. DOPAMINA Y ALIMENTOS DULCES.....	26
5. SISTEMA OPIOIDE ENDÓGENO Y ALIMENTOS DULCES.....	27
6. SISTEMA HOMEOSTÁTICO Y ALIMENTOS DULCES.....	30
JUSTIFICACIÓN.....	35
HIPÓTESIS.....	36
OBJETIVOS	37
GENERAL	37
ESPECÍFICOS.....	37
MATERIALES Y MÉTODO.....	38



1. ANIMALES Y CONDICIONES DE ALOJAMIENTO	38
2. OBTENCIÓN DE CAMADAS.....	38
3. GRUPOS Y CONSUMO DE EDULCORANTES	39
4. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO	40
5. VARIABLES DE ESTUDIO	42
6. ANÁLISIS DE DATOS.....	43
RESULTADOS.....	44
1. ARTÍCULO DE REVISIÓN	44
2. CONSTANCIA DE ENVÍO.....	59
3. INCREMENTO DE PESO.....	60
4. INGESTA DE LÍQUIDOS Y ALIMENTO	61
5. EXPRESIÓN DE Δ FosB Y CONTEO DE CÉLULAS INMUNORREACTIVAS	63
5.1 NÚCLEO ACCUMBENS CORE.....	63
5.2 NÚCLEO ACCUMBENS SHELL.....	65
5.3 ESTRIADO DORSAL.....	66
DISCUSIÓN.....	68
1. INCREMENTO DE PESO Y CONSUMO DE ALIMENTO	68
2. CONSUMO DE EDULCORANTES	70
3. EXPRESIÓN DE Δ FosB Y CONTEO DE CÉLULAS INMUNORREACTIVAS.....	71
CONCLUSIONES	75
GENERAL	75
ESPECÍFICAS.....	75
BÍBLIOGRAFÍA	76



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del ent-kaureno steviol.	14
Figura 2. Esquema que muestra la ruta de absorción, metabolismo y excreción de los glucósidos de esteviol.....	16
Figura 3. Estructura química del Ace-K.....	17
Figura 4. Esquema que muestra la ruta de absorción, metabolismo y excreción del acesulfame potásico.	17
Figura 5. Sistema de recompensa del cerebro de rata.....	20
Figura 6. Esquema de la composición química de las interneuronas del estriado.	22
Figura 7. Principales aferencias que regulan la actividad de las neuronas estriatales.....	24
Figura 8. "Puntos calientes" hedónicos en el núcleo accumbens.....	29
Figura 9. El cerebro percibe las señales metabólicas periféricas a través de hormonas (insulina, leptina y demás) y nutrientes (glucosa) para regular el metabolismo de la glucosa.....	33
Figura 10. Animales alojados en contenedores de acrílico con sus respectivos bebederos.	38
Figura 11. Representación esquemática del diseño experimental.	39
Figura 12. Esquema del corte coronal que representa las áreas de interés del experimento.....	41
Figura 13. Peso corporal de los animales expuestos al consumo de extracto de Stevia (A) y Acesulfame-K (B) durante 20 días comparados con el grupo control.....	60
Figura 14. Consumo total de líquidos durante los 20 días de tratamiento.....	61
Figura 15. Consumo de líquidos dentro de los grupos de elección libre.	62
Figura 16. Correlación positiva entre la ingesta de edulcorantes no calóricos y el consumo de alimento en los grupos ELS 0.2% (A) Y ELAcK 0.2% (B).....	62
Figura 17. Consumo de alimento durante los 20 días de tratamiento.....	63
Figura 18. Cuantificación de células inmunoreactivas a Δ FosB en el NAc Core.	64
Figura 19. Cuantificación de células inmunoreactivas a Δ FosB en el NAc Shell.....	66
Figura 20. Cuantificación de células inmunoreactivas a Δ FosB en el Estriado Dorsal.....	67



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Edulcorantes no nutritivos aprobados por la FDA y su ingesta diaria admisible (IDA).....	13
Tabla 2. Glucósidos de steviol más abundantes en Stevia rebaudiana.....	15
Tabla 3. Listado y clasificación de las variables consideradas en el estudio.....	42
Tabla 4. Promedios del peso corporal inicial, final y ganancia porcentual en ratas macho control y ratas tratadas con extracto de Stevia y Acesulfame-K.....	60



INTRODUCCIÓN

La preferencia por el consumo de productos agradables al paladar va más allá de la mera satisfacción del hambre pues se ha observado que el azúcar posee fuertes componentes hedónicos y activa la vía mesolímbica de recompensa de manera similar al alcohol, la nicotina y otras drogas recreativas (Muhlhausler y Gugusheff, 2016). Esta vía se origina en los cuerpos celulares dopaminérgicos del área tegmental ventral (VTA) del mesencéfalo, cuyos axones se proyectan principalmente al núcleo acumbens (NAc) en el estriado ventral y en menor medida a la amígdala, núcleo basal de la estría terminalis (BNST), área septal lateral e hipotálamo lateral (Adinoff, 2004).

Sin embargo, a pesar de que se ha observado que alimentos dulces producen uno o más efectos similares a las drogas de abuso, se sugiere que los edulcorantes no nutritivos no activan las vías de recompensa de la misma forma en que lo hacen los edulcorantes nutritivos debido a una disociación existente entre el sabor y el contenido calórico (Yang, 2010).

El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad neuronal de ciertas áreas de la vía mesolímbica de recompensa inducida por el consumo de edulcorantes no calóricos, mediante la detección del factor de transcripción Δ FosB. Esta proteína, miembro de la familia Fos, se acumula gradualmente hasta convertirse en la proteína Fos dominante en el NAc y estriado dorsal como resultado de una administración prolongada de drogas y debido a su estabilidad persiste en estas regiones durante semanas o meses (Nestler, 2004). Además se ha sugerido que el factor de transcripción Δ FosB es necesario para mediar la sensibilidad a drogas e incrementar la compulsión por la conducta de recompensa (Nestler, 2008).



REVISIÓN DE ANTECEDENTES

1. EDULCORANTES

Los edulcorantes son endulzantes artificiales o naturales sustitutos de azúcar. Entre ellos se conocen sustancias sintéticas como el aspartamo, acesulfame K o acesulfame potásico, neotame, sacarina, sucralosa y adventame, los cuales se encuentran en productos clasificados como “dietéticos” o “sin azúcar”, también existen los de origen natural como la miel, néctar de coco, azúcar de coco, jarabe de maple, melaza, alcoholes de azúcar, néctar de agave, estevia, entre otros (Quarrat-ul-Ain y Khan, 2015). Se caracterizan por tener una mayor potencia dulcificante en comparación con el azúcar, aunque todos difieren en propiedades particulares tales como su potencia, sensación en la boca, duración de la dulcificación, el regusto y estabilidad así como en su estructura (Roberts, 2016). Se pueden dividir dependiendo de su aporte energético: los edulcorantes nutritivos (NS) como los monosacáridos, disacáridos y polialcoholes contienen carbohidratos y proveen energía, por el contrario, los edulcorantes no nutritivos (NNS) son aquellos con nulo o prácticamente nulo aporte energético (Fitch y Keim, 2012), dentro de estos últimos se encuentran los glucósidos de esteviol y el acesulfame potásico.

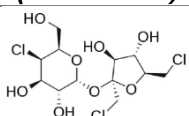
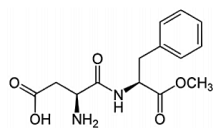
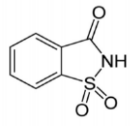
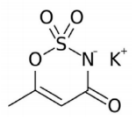
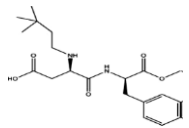
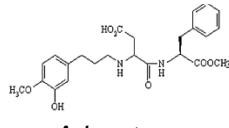
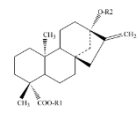
El primer NNS fue descubierto en 1885 por el químico ruso Constantin Fahlberg, no obstante lo daría a conocer hasta 1893 en la Exposición Universal de Chicago con el nombre comercial de sacarina, sin embargo, se consideraría un mal sustituto del azúcar usado solamente por personas diabéticas. Fue hasta 1950 cuando la popularidad de la sacarina y otros nuevos productos llamados ciclamatos empezó a crecer entre consumidores no diabéticos (especialmente mujeres), en principio debido a un racionamiento de azúcar durante la segunda guerra mundial y posteriormente en respuesta a una creciente demanda estética del cuerpo (De La Peña, 2010). Actualmente, los NNS se encuentran en una gran variedad de productos alimenticios y bebidas e incluso productos de higiene, de hecho, en Estados Unidos se lanzaron más de 6 000 nuevos productos entre 1999 y 2004 que contenían uno o más edulcorantes (Yang, 2010) y se espera que el mercado alcance los 2.2 billones de dólares a nivel mundial para el año 2020 tomando en cuenta el crecimiento anual aproximado del 5.1% registrado entre 2008 y 2015, proyectándose el mayor crecimiento en América Latina y China principalmente de los productos naturales como los glicósidos de esteviol debido a la tendencia de los consumidores por consumir dichos productos (Sylvetsky y Rother, 2016).

En la actualidad, el consumo y distribución de los NNS se encuentra regulado por diferentes instancias a nivel mundial. En los Estados Unidos, seis NNS artificiales (sucralosa, aspartamo, sacarina, acesulfamo potásico, neotame y advantame) se encuentran aprobados como aditivos alimenticios por la Administración de Alimentos y Medicamentos (USFDA, siglas en inglés), mientras que dos más de origen natural (glucósidos de esteviol y extracto de Luo Hang Guo) están bajo el término de “*generalmente reconocidos como seguros*” (GRAS, siglas en inglés) por la misma FDA debido a que estas sustancias aún se encuentran en revisión (Pepino, 2015) (información más detallada en **Tabla 1**). En Europa, el Parlamento Europeo y el Consejo han autorizado la distribución y consumo de acesulfamo potásico, aspartamo, sales de aspartamo-acesulfamo, ciclamato,

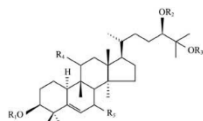


neohesperidina dihidrochalcona, sacarina, sucralosa, taumatina, neotame, advantamo y los glucósidos de esteviol, tras la opinión favorable de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, siglas en inglés) (Garcia-Almeida *et al.*, 2013). Estos mismos edulcorantes están autorizados en México de acuerdo con la Secretaría de Salud (SALUD), que es el órgano encargado de determinar el uso de aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) (Salud, 2012; COFEPRIS, 2016).

Tabla 1. Edulcorantes no nutritivos aprobados por la FDA y su ingesta diaria admisible (IDA).

Edulcorante (estructura)	Intensidad (relativo a la sucrosa)	IDA (mg/kg bw/d)
 Sucralosa	600	5
 Aspartamo	160-220	50
 Sacarina	200-700	5
 Acesufamo-K	200	15
 Neotame	7000-13000	0.3, 18
 Advantamo	20000-40000	32.8
 Glíósido de esteviol	200-300	4





Extracto de Luo Hang Guo

150-300

No determinado

*(Roberts 2016; Garcia-Almeida *et al.* 2013; Koyama *et al.* 2003; Geuns 2003; Abo Elnaga *et al.* 2016; Fitch & Keim 2012; Brown *et al.* 2010; Shankar *et al.* 2013).

1.1 GLUCÓSIDOS DE STEVIOL

Los glucósidos de steviol son edulcorantes no calóricos diterpenos pertenecientes a la serie de los *ent*-kaurenos (**Figura 1**), en donde el grupo metilo en el C-10 está en la cara α y el hidrógeno en el C-5 está en la cara β de la molécula (Hanson, 2016). Estos glucósidos de steviol o estevioletos se encuentran en grandes cantidades en las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae), planta originaria de la cordillera de Amambay en el noroeste de Paraguay, cerca de la frontera con Brasil (Ceunen y Geuns, 2013; Hanson, 2016).

En cuanto a *S. rebaudiana* Bertoni, esta fue clasificada por Moisés Santiago Bertoni en 1899 y aunque ya era aprovechado el poder dulcificante de la planta por las tribus guaraníes locales, fue hasta 1931 cuando se describió por primera vez la fórmula química del steviosido por Bridel y Lavieille, y 45 años más tarde se obtuvieron rebaudiosido A y rebaudiosido B en la Universidad de Hiroshima (Ceunen y Geuns, 2013; Hanson, 2016). Hoy en día se conocen más de 30 glucósidos de steviol, a pesar de esto sólo 9 son los más abundantes en las hojas de *S. rebaudiana* respecto a su peso seco, a saber: esteviosido (5-10%), rebaudiosidos A (2-5%) y C (1%), dulcosido A (0.5%), rebaudiosidos D, E y F (0.2%) y esteviolbiosido (0.1%) (Ceunen y Geuns, 2013) (**Tabla 2**). La diversidad de glucósidos se debe a diferentes glucosilaciones de steviol realizadas por diversas glucotransferasas ya sea añadiendo una azúcar en el grupo carboxilo del C19 o en el C13, este patrón de glucosilación influye fuertemente en la percepción del sabor (Richman *et al.*, 2005).

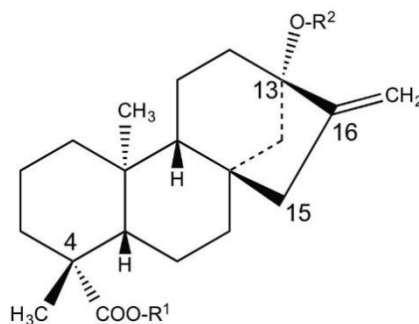


Figura 1. Estructura del *ent*-kaureno steviol.



Tabla 2. Glucósidos de steviol más abundantes en *Stevia rebaudiana*.

Nombre del compuesto	R1	R2	Potencia*
esteviol	H	H	
esteviolbiosido	H	Glcβ1-2Glcβ1-	90
esteviosido	Glcβ1-	Glcβ1-2Glcβ1-	210
rebaudiosido A	Glcβ1-	Glcβ1-2(Glcβ1-3)Glcβ1-	200-300
rebaudiosido C	Glcβ1-	Rhaα1-2(Glcβ1-3)Glcβ1-	30
rebaudiosido D	Glcβ1-2Glcβ1-	Glcβ1-2(Glcβ1-3)Glcβ1-	221
rebaudiosido E	Glcβ1-2Glcβ1-	Glcβ1-2Glcβ1-	174
rebaudiosido F	Glcβ1-	Xyl1-2(Glcβ1-3)Glcβ1-	200
dulcosido A	Glcβ1-	Rhaα1-2Glcβ1-	

(Glc = glucosa, Rha = ramnosa, Wyl = Xylose) (modificado de Wölwer-Rieck, 2012). *Potencia comparada con una concentración de sucrosa 0.4%

En un inicio, la comercialización de *S. rebaudiana* como edulcorante sólo se presentaba en Japón, actualmente se cultiva en varios países del mundo como Corea, China, Canadá, Israel, India, Paraguay y Brasil (Hanson, 2016) hoy en día existen muchos productos que contienen glucósidos de steviol y varían desde bebidas dulces alcohólicas y no alcohólicas hasta medicamentos y suplementos dietéticos (Mathur *et al.*, 2017), aunque también se incluyen preparaciones que contienen no menos del 95% de glucósidos de esteviol y que cumplen con los criterios y especificaciones de pureza aprobadas para uso como suplemento dietético edulcorante (JECFA, 2016). Por esta razón, el Comité Mixto de la Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS, siglas en inglés) de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA, siglas en inglés), así como la USFDA de manera independiente, han establecido una IDA de 4 mg/kg/día expresada como esteviol (JECFA, 2016; USFDA, 2018), mientras que en México, SALUD permite el uso de límites máximos de hasta 3 500 mg/kg en la elaboración de alimentos salud (Salud, 2012).

Los glucósidos no pueden ser metabolizados por los fluidos intestinales o por enzimas digestivas (Wingard *et al.*, 1980; Hutapea *et al.*, 1997; Nikiforov *et al.*, 2013), de hecho, se ha reportado que la absorción de estas moléculas por el sistema digestivo es prácticamente nula (Geuns *et al.*, 2003; Koyama *et al.*, 2003). Diversos estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que los glucósidos (esteviosido, rebaudiosido A, B, C, D, E, F, M,



esteviolbiosido y dulcosido A) son degradados en su totalidad hasta esteviol por la microbiota intestinal (Wingard *et al.*, 1980; Hutapea *et al.*, 1997; Geuns *et al.*, 2003; Koyama *et al.*, 2003; Roberts y Renwick, 2008; Wheeler *et al.*, 2008; Nikiforov *et al.*, 2013) y que la glucosa liberada es utilizada al instante por estas bacterias intestinales (Momtazi-Borojeni *et al.*, 2017), mientras que la mayor parte del esteviol producido por la hidrólisis bacteriana es absorbido por el colon y transportado hacia el hígado para ser transformado en glucuronido de esteviol, el cual es filtrado por los riñones y excretado a través de la orina, en cambio, la pequeña fracción restante de esteviol es excretada a través de las heces (Figura 2) (Geuns *et al.*, 2006; Wheeler *et al.*, 2008; Purkayastha *et al.*, 2016).

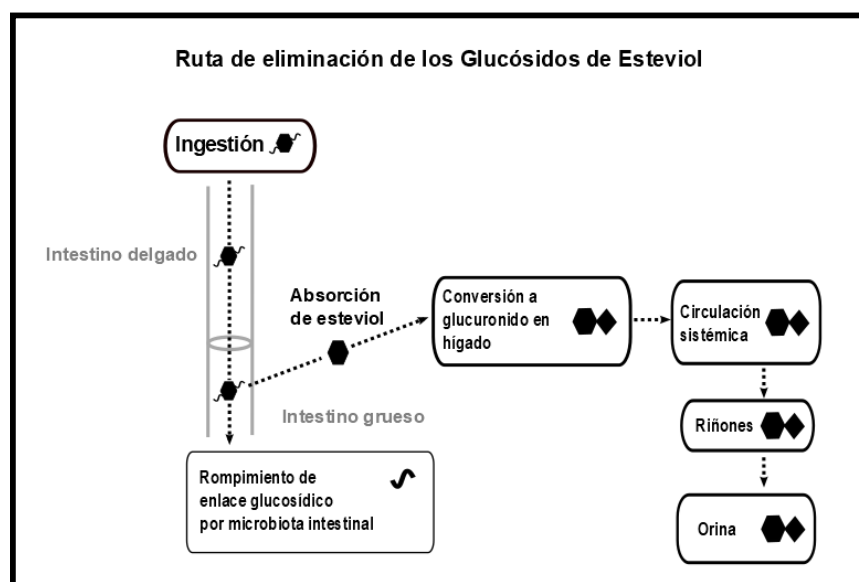


Figura 2. Esquema que muestra la ruta de absorción, metabolismo y excreción de los glucósidos de esteviol.

1.2 ACESULFAME-K (ACESULFAME POTÁSICO)

Acesulfame K, acesulfame potásico o sal de potasio del 6-metil-1, 2, 3-oxotiazín-4(3H)-ona-2, 2-dióxido (en adelante Ace-K) (**Figura 3**), es un edulcorante artificial no calórico, aproximadamente 200 veces más dulce que el azúcar, y debido a su estabilidad y resistencia térmica es muy utilizado en alimentos y bebidas (principalmente en bebidas dietéticas) aunque también se utiliza en la elaboración de refrescos, preparaciones frutales, postres, cereales y goma de mascar (Lawrence, 2003; Yalamanchi *et al.*, 2016). Adicional a su potencia dulcificante, el Ace-K provoca un resabor amargo el cual varía en intensidad de individuo a individuo (Allen *et al.*, 2013), de ahí que frecuentemente se encuentre combinado con otros edulcorantes como aspartame, ciclamato y sacarina (Lawrence, 2003; Yalamanchi *et al.*, 2016).



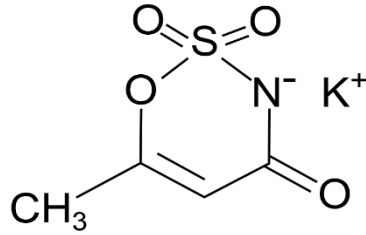


Figura 3. Estructura química del Ace-K.

Descubierto en 1967 por Karl Claus y Harold Jensen, fue aprobado para uso comercial en 1985 por la Unión Europea y en 1988 por la USFDA (Magnuson *et al.*, 2016). Actualmente, el ADI establecido en Europa y Estados Unidos es de 15 mg/kg/día (JECFA, 2016; USFDA, 2018), mientras que en México se permite un límite máximo en suplementos alimenticios de 2 000 mg/kg (Salud, 2012). No obstante, no se han encontrado registros de acumulación en tejidos a consecuencia de una repetida administración (von Rymon Lipinski, 1985; Magnuson *et al.*, 2016), en otras palabras, una vez ingerido es absorbido, distribuido rápidamente por el torrente sanguíneo hacia los tejidos y excretado a través de la orina (>99%) y las heces (1%) (**Figura 4**) (von Rymon Lipinski, 1985; Magnuson *et al.*, 2016; Yalamanchi *et al.*, 2016). Interesantemente, trabajos realizados en ratas, perros, cerdos y humanos, utilizados como referencia por la Comisión Europea, no sólo reportan que Ace-K es excretado principalmente por la orina sin cambios metabólicos, sino también reportan una ligera, aunque no significativa, degradación del eductorante (European Commission. Scientific Committee on Food, 2000).

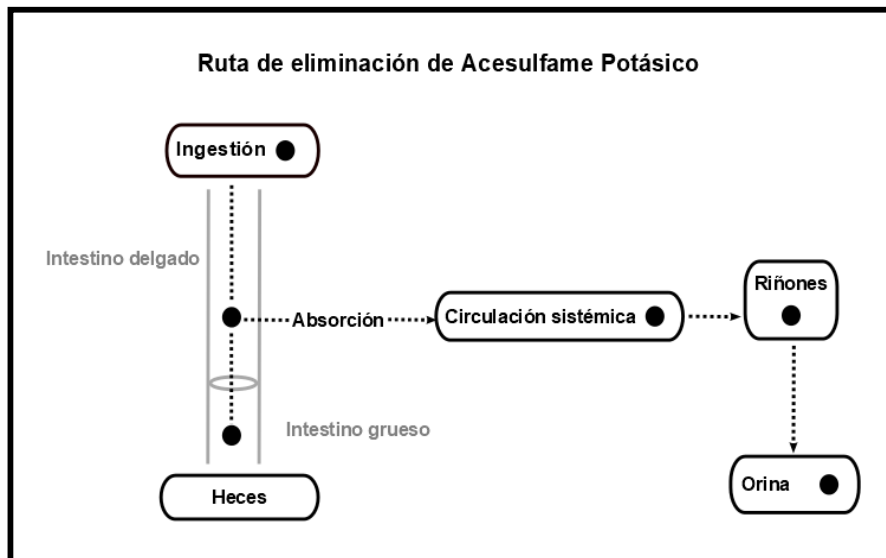


Figura 4. Esquema que muestra la ruta de absorción, metabolismo y excreción del acesulfame potásico. Observe su prácticamente nulo cambio a lo largo de su trayectoria dentro del organismo.



2. VÍA SENSORIAL DEL SABOR

La sensación del sabor inicia en la lengua, sobre la superficie de esta se encuentran distribuidas estructuras en forma de cebolla llamadas papilas gustativas: las fungiformes se distribuyen principalmente en la parte anterior; las circunvaladas, en la parte posterior; y las foliadas en ambos lados de la lengua. Las papilas gustativas están compuestas de entre 50 y 100 células receptoras de sabor (CRS), es aquí donde inicia la sensación del sabor (Simon *et al.*, 2006; Yarmolinsky *et al.*, 2009; Medler, 2015).

Cuando las sustancias dulces llegan a la membrana de las CRS interactúan con el receptor heterodimérico T1R2-T1R3 unido a proteína G gustaducina ($G\alpha_i$), que se expresan aproximadamente en el 30% de todas las papilas gustativas (Nelson *et al.*, 2001), y aunque no se conoce a ciencia cierta la estructura del receptor T1R2-T1R3 se piensa que está compuesto por un dominio extracelular denominado Dominio de Venus Atrapamosca (DVAM), un Dominio Transmembranal de siete hélices (DTM) y un Dominio Rico en Cisteína (DRC) que une a los otros dos dominios, estructura clásica de la familia de receptores unidos a proteína G clase C (GPCR). Además, mediante modelos basados en el receptor metabotrópico de glutamato mGluR1, se sugiere la existencia de múltiples sitios de unión para las moléculas dulces tanto en VFTD de T1R2 y T1R3 como en TMD de T1R3 y en CRD (Temussi, 2007; Chéron *et al.*, 2017).

Una vez unidos los ligandos al receptor se inicia la transducción de señal, entonces las subunidades $G\beta\gamma$ de la proteína G unida a T1R2-T1R3 se separan y activan a la fosfolipasa $C\beta_2$ ($PLC\beta_2$) que hidroliza al fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP_2) a inositol 1, 4, 5-trifosfato (IP_3) y diacilglicerol (DAG). Luego el IP_3 se une al receptor de IP_3 (IP_3R_3) provocando el aumento de Ca^{2+} desde el retículo endoplasmático, esta liberación de Ca^{2+} provoca la activación del canal catiónico de potencial del receptor transitorio miembro 5 de la subfamilia M (TRPM5) permitiendo la entrada de Na^+ , la depolarización de la membrana y la activación de los canales catiónicos dependientes de voltaje (VGCC) resultando en la liberación de ATP a través de hemicanales de panexina y conexina (DeSimone *et al.*, 2012). Para Margolskee, esta vía sólo es activada por edulcorantes no sacáridos y propone una segunda vía para los edulcorantes sacáridos, donde la unión de la molécula dulce con el receptor T1R2-T1R3 provoca la activación de adenil ciclasa (AC) generando AMPc, el cual provoca directa o indirectamente, la liberación de Ca^{2+} y la consecuente despolarización de la membrana de las TRCs por medio de canales iónicos, mediante la activación de alguna proteína quinasa, resultando de igual forma en la liberación de ATP (Margolskee, 2002).

El ATP liberado actúa sobre los receptores purinérgicos P2X2/P2X3 de las fibras nerviosas gustativas adyacentes (Finger, 2005). Las CRS ubicadas en el paladar y la parte anterior de la lengua están inervadas por la cuerda timpánica y por el nervio petroso mayor, ramas del nervio facial (VII); por otro lado, los TRCs que se encuentran en la epiglotis, esófago y la parte posterior de la lengua están inervados por la rama lingual del nervio glossofaríngeo (IX) y la rama laríngea superior del nervio vago (X) (Simon *et al.*, 2006). La información recaudada por los nervios VII, IX y X es llevada a la parte rostral del núcleo del tracto solitario (NST), primer sitio de relevo en la médula oblongada para posteriormente llegar al núcleo parabraquial (PbN) a nivel del puente y después a la parte parvocelular del núcleo talámico posteromedial ventral del tálamo (VPMpc) en roedores, sin embargo, en primates



(incluyendo al humano) neuronas del NST proyectan directamente hacia el VPMpc desde donde la vía del sabor se conecta con la corteza primaria del sabor, una región ubicada en la frontera entre la corteza insular (IC) anterior y el opérculo frontal (OF), para finalmente llegar a la corteza orbitofrontal (OFC) la cual es conocida como la corteza secundaria del sabor (Mizoguchi *et al.*, 2016).

3. MECANISMOS NEURONALES EN LA RECOMPENSA ALIMENTICIA

Los estímulos provenientes de la lengua entonces tienen su primer relevo a nivel central en el NST de donde salen proyecciones de segundo orden hacia el PbN, a partir de este punto surgen dos vías: la primera, una vía dorsal sensorial que termina en IC, OF y OFC, y la segunda, una vía ventral afectiva encargada de la evaluación hedónica y de recompensa de los estímulos gustativos, se proyecta hacia la zona del estriado ventral, principalmente amígdala, hipotálamo lateral (HL) y el núcleo cama de la estría terminalis (BNST) (Norgren, 1976; Hajnal y Norgren, 2005). No obstante, no existe evidencia de que el segundo relevo de señales provenientes de la lengua en roedores, es decir, el PbN, exista en primates humanos y no humanos. El hecho de la falta de evidencia de este segundo relevo sugiere, como se mencionó anteriormente, que las señales provenientes de la periferia llegan al NST para luego proyectarse directamente hasta el VPMpc (Small y Scott, 2009), y posteriormente viajar hacia la corteza primaria del sabor donde se evalúa la intensidad e identidad del sabor, y subsecuentemente, en la OFC comienza la evaluación de la recompensa de los alimentos, finalmente estas proyecciones retornan a los ganglios basales, principalmente a estriado ventral y parte anterior del núcleo caudado implicados en la evaluación hedónica y de recompensa (Rolls, 2015).

Al respecto, una recompensa se define como el componente central del aprendizaje basado en incentivos, respuestas apropiadas a estímulos y la realización de conductas dirigidas (Haber y Knutson, 2010); la recompensa se traduce en placer, se experimenta en respuesta a estímulos discretos que producen excitación y gozo (Adinoff, 2004); y en laboratorio puede ser definida operacionalmente en términos de preferencia, aversión o respuesta operante (Hajnal y Norgren, 2005). Por esto no es de sorprenderse que mecanismos neuronales implicados en el consumo de drogas de adicción estén también implicados en el consumo de alimentos y viceversa. Aun así, la regulación de las conductas alimenticias, y por ende las respuestas hedónicas alimenticias, son moduladas por múltiples mecanismos periféricos y centrales que directa o indirectamente comunican la información al sistema mesolímbico de la recompensa.

3.1 SISTEMA DE RECOMPENSA

En 1954 fueron identificadas por primera vez áreas específicas del cerebro encargadas de controlar mecanismos de recompensa en la Universidad de McGill. Olds y Milner desarrollaron un experimento en donde se le permitía a un grupo de ratas estimularse eléctricamente utilizando un electrodo intracraneal, encontraron que estos animales



regresarían para autoestimularse de manera repetitiva, excluyendo en regularmente otras actividades (Olds y Milner, 1954). En décadas subsecuentes, estructuras cerebrales, vías neuronales, y neurotransmisores implicados en la recompensa y el reforzamiento fueron refinados, determinándose dentro del sistema de recompensa tres circuitos (**Figura 5**): la primer vía es el tracto de fibras mielinizadas que corre del núcleo cama del haz medial del prosencéfalo (estructuras límbicas subcorticales anteriores al hipotálamo y el área preóptica) hacia VTA, con glutamato como su posible neurotransmisor; la segunda vía es ascendente que sale de VTA hacia NAc y que utiliza dopamina como neurotransmisor; finalmente, otra más ascendente que corre de NAc a pálido ventral y que usa ácido gamma-aminobutírico (GABA), sustancia P y encefalina como neurotransmisores. Estos tres circuitos son modulados y reciben aferencias de una variedad de otros neurotransmisores, incluyendo acetilcolina, endorfinas, serotonina, GABA, glutamato, encefalina, dinorfina, y elementos neurales que contienen sustancia P (Gardner, 2011).

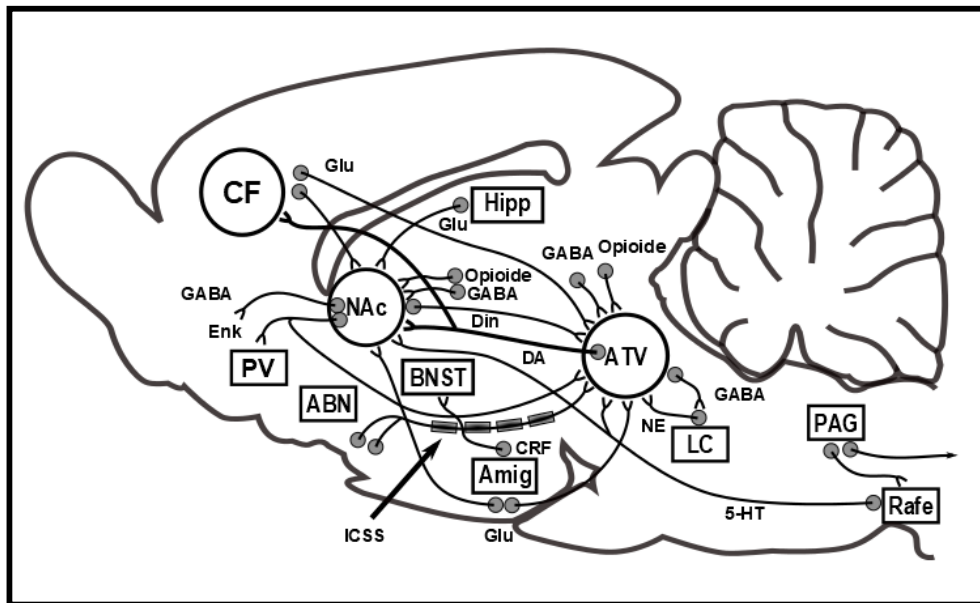


Figura 5. Sistema de recompensa del cerebro de rata. ABN, núcleo cama anterior del haz medial del prosencéfalo; NAc, núcleo accumbens; Amig, amígdala; BNST, núcleo cama de la estría terminalis; CRF, factor liberador de corticotropina; DA, sistema dopaminérgico mesocorticolímbico ascendente ; Din, haz de fibras neuronales de dinorfina que sale desde núcleo accumbens; Enk, haz de fibras neuronales de encefalina que sale desde núcleo accumbens; CF, corteza frontal; GABA, sistema GABAérgico inhibitorio que hace sinapsis en el área tegmental ventral, en núcleo accumbens y alrededor del locus cerúleo, así como también el haz de fibras GABAérgicas que salen de núcleo accumbens; Glu, sistema glutamatérgico que se origina en la corteza frontal y hace sinapsis en área tegmental ventral y núcleo accumbens; 5-HT, fibras serotoninérgicas (5-hydroxitriptamina), las cuales tienen su origen en la parte anterior del núcleo del rafe y se proyectan hacia área tegmental ventral y núcleo accumbens; ICSS, componente mielinizado descendente, moderadamente conductible, del sistema de recompensa, preferentemente activado por estimulación intracranial eléctrica; LC, locus cerúleo; NE, fibras noradrenérgicas que se originan en locus cerúleo y hacen sinapsis en las proximidades del área tegmental ventral; Opiode, sistema opioide endógeno que hace sinapsis con área tegmental ventral y núcleo accumbens; PAG,



materia gris periacueductal; Rafe, núcleo serotoninérgico del rafe en el tallo cerebral; PV, pálido ventral; ATV, área tegmental ventral. (Modificado de Gardner, 2011)

Evolutivamente, se piensa que este sistema surgió para favorecer conductas biológicamente esenciales como la alimentación, la hidratación, la conducta sexual, conductas parentales e interacciones sociales. El refuerzo generado por tales recompensas naturales explicaría la consolidación de memorias biológicamente esenciales, por ejemplo, la ubicación de alimento y comida dentro de cierto rango o el reconocimiento de parejas potenciales (Gardner, 2011).

Dichas recompensas naturales son el resultado de la estimulación sensorial, sin embargo, es difícil determinar el cómo es extraído el componente afectivo de las recompensas de la actividad neural sensorial proveniente de los estímulos periféricos, por esta razón, el gusto es un modelo viable para explorar este problema pues algunos estudios han demostrado que cuando se consumen alimentos palatables se activa la vía mesolímbica de recompensa, de hecho, se puede consumir alimento aún después de haber alcanzado los requerimientos energéticos debido a las propiedades hedónicas de la comida (Alonso-Alonso *et al.*, 2015).

3.2 SISTEMA MESOLIMBICO DOPAMINÉRGICO. Anatomía y neurotransmisores.

Dentro de los tres circuitos descritos por Gardner (2011), el segundo, denominado vía mesolímbica dopaminérgica, es considerado el componente clave en la evaluación de la recompensa, y a la dopamina como el neurotransmisor crucial, pues la experiencia de recompensa siempre está acompañada por un incremento en su concentración extracelular. Esta vía se origina en los cuerpos celulares dopaminérgicos de ATV para posteriormente proyectarse hacia el NAc en el estriado ventral, aunque también se extienden hacia la amígdala, núcleo cama de la estría terminalis (BNST), área septal lateral e hipotálamo lateral, y entre estas estructuras, las neuronas dopaminérgicas de NAc y ATV parecen ocupar un lugar crítico (Adinoff, 2004). No obstante, las células dopaminérgicas pueden proceder de dos importantes sitios que son el ATV y la sustancia nigra pars compacta (SNc), y aunque la proyección de ATV hacia NAc ha sido el centro de atención en los procesos de recompensa estudios optogenéticos realizados en ratones transgénicos sugieren que la recompensa también puede ser inducida por el sistema nigroestriatal dopaminérgico, es decir, neuronas dopaminérgicas localizadas en la SNc que se proyectan hacia el estriado dorsal (caudado y putamen) (Rossi *et al.*, 2013; Ilango *et al.*, 2014)

Tanto el estriado dorsal como el ventral están compuestos en su mayoría (90-95%) por neuronas espinosas medianas GABAérgicas (MSN) las cuales pueden ser clasificadas en dos grupos dependiendo en su tipo de receptor, por un lado se encuentran aquellas que expresan el receptor excitador a dopamina unido a proteína $G_{s/olf} D_1$ y contienen sustancia P y dinorfina, y por el otro están las que expresan el receptor inhibitorio a dopamina $G_{i/o} D_2$ y contienen encefalina (Kemp y Powell, 1971; Kawaguchi *et al.*, 1995; Ikemoto *et al.*, 2015). El resto de las células que componen al estriado se dividen en cuatro principales clases de interneuronas: colinérgicas, indetificadas por la presencia de acetiltransferasa de colina



(ChAT); somatostatina y neuropéptido Y (NPY) así como la enzima NADPH diaforasa y óxido nítrico sintasa; y GABAérgicas que expresan expresan algún tipo de proteína de unión a calcio, ya sea parvalbúmina o calretenina (Kawaguchi *et al.*, 1995; Tepper y Bolam, 2004) (Figura 6).

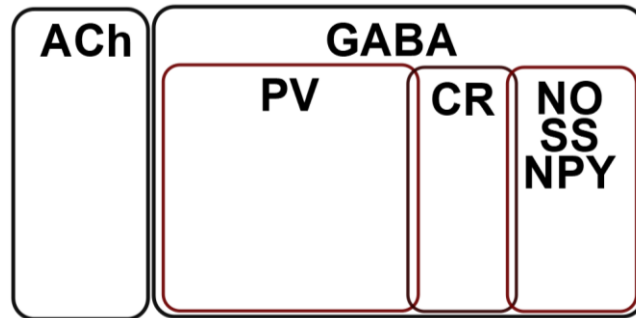


Figura 6. Esquema de la composición química de las interneuronas del estriado. ACh, acetilcolina; PV, parvalbúmina; CR, calretenina; NO, óxido nítrico sintasa; SS, somatostatina; NPY, neuropéptido Y. Las células CR coinciden ligeramente con células PV y NO. Modificado de Kawaguchi *et al.*, 1995.

Comunmente las MSNs D_1 que se proyectan monosinápticamente hacia el segmento interno del globo pálido (GPi), núcleo entopeduncular (EP), y la sustancia nigra pars reticulata (SNr) se consideran como parte de la vía directa (MSNd) del estriado dorsal, mientras que las MSNs D_2 que se proyectan hacia la parte externa del globo pálido (GPe), el núcleo subtalámico (STN), y otras estructuras de los ganglios basales como EP y SNr se consideran como parte de la vía indirecta (MSNi) (Deng *et al.*, 2006; Gerfen y Surmeier, 2011; Wall *et al.*, 2013).

Esta dicotomía de la expresión de receptores D_1 y D_2 también se presenta en NAc, sin embargo, el patrón de dispersión de las proyecciones no parece ser tan marcado como en el estriado dorsal dado que ambas vías inervan principalmente a PV (Lu *et al.*, 1997; Zhou *et al.*, 2003; Smith *et al.*, 2013). Además, tomando en cuenta que el NAc también puede dividirse anatómicamente en un núcleo central (NAc Core) rodeado por una vaina externa (NAc Shell), cabe mencionar que la proporción de la población de MSNs en NAc Shell que expresan ambos receptores D_1 y D_2 es mayor (17%) que en NAc Core (6%) (Bertran-Gonzalez *et al.*, 2008).

Asimismo, cada una de estas dos áreas presenta características únicas, por ejemplo, estudios morfológicos en ratas han determinado que la parte de NAc Shell contiene células más pequeñas y con un menor número de dendritas y espinas dendríticas que aquellas encontradas en NAc Core (Meredith *et al.*, 1992). Molecularmente, existe la tendencia de una mayor concentración de sustancia P, calretenina (Prensa *et al.*, 2003), dopamina, serotonina (Deutch y Cameron, 1992), y receptores de serotonina (Patel *et al.*, 1995). Por su parte, el NAc Core presenta una mayor concentración de calbindina (Voorn *et al.*, 1989; Prensa *et al.*, 2003) y encefalina (Caboche *et al.*, 1993; Rogard *et al.*, 1993). De la misma



manera, existen diferencias en las proyecciones eferentes, por ejemplo, la parte media de NAc Core se proyecta principalmente hacia la parte dorsolateral ventral de PV, mientras que la mayor parte del PV ventromedial se encuentra invadida por la parte media de NAc Shell (Zahm y Heimer, 1990; Heimer *et al.*, 1991; Usuda *et al.*, 1998; Zhou *et al.*, 2003).

La actividad de las MSNs estriatales es regulada por una gran variedad de conexiones neuronales entrantes ya que se considera el mayor sitio de integración de circuitos cortico-talámicos. Aparte de la densa invasión procedente de las neuronas dopaminérgicas del cerebro medio, implicadas en el proceso de recompensa, existen proyecciones glutamatérgicas excitatorias (**Figura 7**) provenientes de la corteza prefrontal, amígdala, hipocampo y tálamo (Wall *et al.*, 2013; Yager *et al.*, 2015). De manera más detallada, el NAc Shell se encuentra invadido mayormente por la corteza prelímbica ventral, infralímbica, orbital medial e insular agranular ventral, mientras que NAc Core recibe especialmente aferencias provenientes de la corteza prelímbica dorsal e insular agranular dorsal (Sesack *et al.*, 1989; Berendse *et al.*, 1992; Brog *et al.*, 1993; Groenewegen *et al.*, 1996). A su vez, las proyecciones glutamatérgicas del subículo ventral del hipocampo invierten principalmente al NAc Shell, mientras que el subículo dorsal se proyecta hacia regiones más rostralaterales las cuales incluyen al NAc Core (Brog *et al.*, 1993; Groenewegen *et al.*, 1996). Mientras tanto, las aferencias glutamatérgicas provenientes de la amígdala surgen del núcleo basolateral (BLA) y generan una compleja topografía rostral en NAc Core y caudal en NAc Shell (Wright *et al.*, 1996). Por último, las aferencias talámicas hacia el NAc Core surgen del núcleo intermediodorsal, en cambio, el NAc Shell se encuentra invadido por el núcleo paraventricular (Phillipson y Griffiths, 1985; Berendse *et al.*, 1992).

Sumadas a las aferencias glutamatérgicas y dopaminérgicas existen también proyecciones GABAérgicas provenientes de PV y ATV (Churchill y Kalivas, 1994; Van Bockstaele y Pickel, 1995; Michael *et al.*, 1996; Van Zessen *et al.*, 2012; Tripathi *et al.*, 2013), así como de interneuronas estriatales (Koós y Tepper, 1999; Mallet *et al.*, 2005), proyecciones colinérgicas del tallo cerebral (área tegmental laterodorsal y núcleo pedunculopontino) (Wang *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2015) e interneuronas (Dautan *et al.*, 2014, 2016), innervaciones serotoninérgicas del núcleo dorsal del rafe (Brown y Molliver, 2000), y una pequeña fracción de axones noradrenérgicos desde el locus cerúleo y el NTS (Delfs *et al.*, 1998), que regulan la actividad de las MSNs estriatales (**Figura 7**).



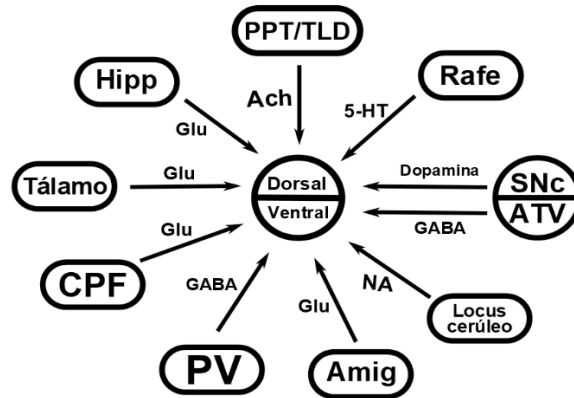


Figura 7. Principales aferencias que regulan la actividad de las neuronas estriatales. CPF, corteza prefrontal; PV, pálido ventral; Amig, amígdala; ATV, área tegmental ventral; PPT, núcleo pedunculopontino; TLD, núcleo tegmental laterodorsal; Hipp, hipocampo; Glu, aferencias glutamatérgicas; GABA, aferencias GABAérgicas; NA, aferencias noradrenérgicas; 5-HT, aferencias serotoninérgicas; ACh, aferencias acetilcolinérgicas.

3.3 FUNCIONES DEL SISTEMA MESOLÍMBICO DOPAMINÉRGICO EN LA RECOMPENSA

Como ya se ha mencionado, ciertos procesos de recompensa son mediados por el sistema mesolímbico dopaminérgico, el cual se compone de proyecciones dopaminérgicas de VTA hacia el estriado ventral, paralelamente a la proyección dopaminérgica nigro-estriatal. Dentro de este sistema, el estriado funciona como la estación de entrada de los ganglios basales, capaz de integrar aferencias corticales, talámicas y mesencefálicas. No obstante, pese a ser una estructura continua, diferentes regiones estriatales parecen participar en distintas redes funcionales, por una parte el NAc está envuelto dentro de una red límbica y por otra el estriado dorsal parece estar envuelto en una red asociativa y sensorimotora.

Dentro del estriado, el NAc es considerado el mayor componente del estriado ventral y, por mucho tiempo, se ha tomado como una estructura clave en la mediación de procesos motivacionales y emocionales, un sistema de comunicación límbico-motor, el punto de efecto de ciertas drogas psicoactivas, y un punto clave en el control impulsos biológicos necesarios para la supervivencia y la reproducción (Salgado y Kaplitt, 2015). De hecho, algunos trabajos han demostrado su papel crucial en procesos de locomoción (Gong *et al.*, 1999; Roberts *et al.*, 2012), aprendizaje (Park *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2018), motivación sexual (Platek y Singh, 2010; Beny-Shefer *et al.*, 2017) y alimentación (Hernandez y Hoebel, 1988b; Rada *et al.*, 2005; Brown *et al.*, 2011).

No obstante, diversos estudios han demostrado diferencias en el procesamiento neural de la recompensa entre las subdivisiones anatómicas Core y el Shell. En primera instancia, se ha observado que la administración de drogas en contextos incondicionados aumentan la liberación de dopamina tanto en NAc Core como en el Shell (Stuber *et al.*, 2005), siendo más perceptible este aumento dentro del Shell (Aragona *et al.*, 2008). Aunado a esto,



experimentos con estímulos gustativos incondicionados han demostrado que sólo los estímulos apetitivos (positivos) aumentan la liberación de dopamina en el Shell, mientras que en el Core se puede observar un aumento de dopamina tanto por estímulos apetitivos como aversivos en ratas “năive” (Bassareo *et al.*, 2002), lo cual sugiere que la actividad dopaminérgica del NAc Shell está relacionada con una función de valencia motivacional (apetitiva o aversiva) y novedad, en tanto que en el NAc Core se relaciona con un rol en la expresión motivacional (Di Chiara, 2002).

Adicionalmente, modelos de reforzamiento, como el condicionamiento pavloviano e instrumental, con alimentos (Corbit *et al.*, 2001; Bassareo, Cucca, Frau, *et al.*, 2015; Bassareo, Cucca, Musio, *et al.*, 2015) y drogas psicoestimulantes (Ito *et al.*, 2004; Fenu *et al.*, 2006; Lecca *et al.*, 2007) han relacionado a la actividad dopaminérgica del NAc Shell con la formación de asociaciones positivas entre señales predictivas y el valor afectivo del resultado de una acción, mientras que al NAc Core se le ha relacionado con la selección de acciones óptimas ante un estímulo, es decir que participa en la selección de respuestas adaptativas.

Del mismo modo al estriado dorsal se le ha implicado en la selección de respuestas dirigidas condicionadas y particularmente se le ha involucrado en la formación de hábito pues se ha observado que con la repetitiva exposición a estímulos apetitivos y drogas predomina la activación de estructuras dorsales estriales (Yin *et al.*, 2005, 2008). Interesantemente, experimentos con lesiones en el estriado dorsal han demostrado una división de tareas en la mediación del aprendizaje de habilidades pues mientras lesiones en el estriado dorsomedial inhiben el condicionamiento instrumental dirigido, lesiones en el estriado dorsolateral interrumpen la formación de hábitos (Yin *et al.*, 2009).

Sin embargo, la recompensa no sólo implica el reforzamiento, también incluye la excitación o incitación, estado de motivación que conduce a la conducta de acercamiento. Interesantemente, al sistema mesolímbico dopaminérgico también se le ha implicado en funciones motivacionales pues parece energizar respuestas condicionadas en un ambiente en donde se ha llevado a cabo un condicionamiento extendido. Por ejemplo, Wyvell y Berridge (2000) reportaron que el incremento de la actividad dopaminérgica dentro del NAc Shell aumentaba la motivación por la recompensa (Wyvell y Berridge, 2001), resultados que son consistentes con otros trabajos (Peciña y Berridge, 2013). Para Ikemoto, el sistema dopaminérgico estriatal juega un papel primordial en la regulación de la excitación o estados que involucran la interacción recíproca de cuerpo y mente, lo cual permite a los animales interactuar con el ambiente a fin de procurar estímulos biológicamente importantes o escapar del peligro, así la activación del sistema mesolímbico dopaminérgico conlleva a un estado de afecto positivo, un estado que resulta en un aprendizaje de acercamiento o reforzamiento positivo, de esta manera el afecto positivo se convierte en sinónimo de recompensa (Ikemoto, 2007).

Para terminar con esta sección es importante recordar que el estriado está compuesto por dos vías dopaminérgicas, la directa, que expresa el receptor excitador D₁ y contienen sustancia P y dinorfina, y la indirecta, células que expresa el receptor inhibitor D₂ y contienen encefalina (Kemp y Powell, 1971; Kawaguchi *et al.*, 1995; Ikemoto *et al.*, 2015). Al respecto, existe considerable evidencia que indica que estas dos vías se encuentran involucradas en el control de conductas dirigidas, las cuales incluyen la adquisición de



estímulos compensatorios y la evasión de estímulos aversivos. Por citar algunos ejemplos, se ha reportado que la activación optogenética de neuronas D₁ en el NAc induce efectos reforzantes positivos, mientras que la excitación de neuronas D₂ provoca aversión (Kravitz *et al.*, 2012). De manera similar, la activación de neuronas D₂ en el NAc de ratones suprime la recompensa inducida por cocaína, en tanto que la activación de las neuronas D₁ induce efectos contrarios (Lobo *et al.*, 2010). Y también se ha demostrado que la activación optogenética de las MSN D₁, pero no las MSN D₂, promueven el condicionamiento de preferencia de lugar con morfina (Koo *et al.*, 2014). Finalmente, cabe resaltar que debido a las acciones diferenciales de la vía directa e indirectas sobre sus áreas de proyección resulta ser más gratificantes una estimulación simultánea de ambos receptores en el estriado ventral que la estimulación de uno solo (Ikemoto *et al.*, 2015).

4. DOPAMINA Y ALIMENTOS DULCES

Una de las explicaciones del por qué se consumen preferentemente alimentos dulces está en que son más placenteros. Al respecto, hasta hace poco se consideraba a la dopamina como el neurotransmisor fundamental en los procesos de recompensa, de hecho, las primeras investigaciones apuntaban hacia una relación entre el sistema dopaminérgico y el estriado, aunque no se determinaba el rol exacto de la dopamina (McCaleb y Myers, 1979; Church *et al.*, 1987; Hernandez y Hoebel, 1988a). Posteriormente, las investigaciones encontraron una relación positiva entre la actividad dopaminérgica y la recompensa del sabor de la comida (Mark *et al.*, 1991; Hajnal y Norgren, 2001; Bassareo *et al.*, 2002; Small *et al.*, 2003), actividad que se extiende incluso hacia la identificación de señales predictivas de la recompensa (Roitman, 2004).

En un contexto evolutivo, la dopamina ha sido asociada con la identificación del valor nutricional de los alimentos (McCutcheon, 2015), pues de esta manera se empezó a identificar a los alimentos dulces como una fuente de energía en forma de carbohidratos, hipótesis respaldada por diversos trabajos que han asociado la activación dopaminérgica dentro del estriado con infusiones de nutrientes (por ejemplo glucosa) en diversas partes del tracto digestivo, aún en ausencia de señales de sabor (Mark *et al.*, 1994; Touzani *et al.*, 2008; Ren *et al.*, 2010).

Basados en estos hallazgos, que colocan a los alimentos como una potente recompensa natural, muchos trabajos comparan a la obesidad con la adicción a las drogas (Volkow y O'Brien, 2007; Kenny, 2011; Davis *et al.*, 2013; De Jong *et al.*, 2016) y a los alimentos palatables, particularmente aquellos con alto contenido de azúcares, con drogas adictivas como la cocaína (Lenoir *et al.*, 2007), considerando la influencia que ambas patologías tienen sobre las vías dopaminérgicas del cerebro. No obstante, una notable diferencia se hace evidente entre las drogas y los alimentos, pues mientras las primeras incrementan la liberación de dopamina en cada ocasión en que se consumen (Pothos *et al.*, 1991; Wise *et al.*, 1995; Gardner, 2011), los alimentos inducen una habituación, provocando que la liberación de dopamina se desvanezca y desaparezca con el acceso repetido (Bassareo *et al.*, 2002). Tras estas observaciones, también se descubrió que, al menos en la rata, una leve privación de alimento es suficiente para abolir la habituación inducida por alimentos



palatables (Bassareo y Di Chiara, 1999), y se empezaron a desarrollar modelos que elevaban los niveles extracelulares de dopamina cerca del 123% con respecto a los niveles basales (Rada *et al.*, 2005), además de otros cambios típicos de un fenotipo adictivo como aumento en la unión al receptor de dopamina D₁ y una disminución en los D₂ en varias partes del estriado (Colantuoni *et al.*, 2001), y una sensibilización cruzada del sistema dopaminérgico con otras drogas (Avena y Hoebel, 2003a, 2003b). Incluso, se ha descrito un vínculo existente entre la alimentación compulsiva y alteraciones en la transmisión dopaminérgica estriatopalidal en ratas obesas pues mostraron que la conducta compulsiva de la alimentación está asociada con una pobre expresión de receptores D₂ dentro del estriado (Johnson y Kenny, 2010).

En humanos, la neuroimagen funcional ha demostrado que alimentos agradables al paladar activan diferentes zonas del sistema de recompensa, proyecciones dopaminérgicas mesolímbicas e incluso zonas profundas del tallo cerebral (Small *et al.*, 2001; Berridge, 2009; Stice *et al.*, 2013), además de promover la liberación de dopamina en el estriado dorsal dependiendo del placer provocado por la comida (Small *et al.*, 2003). También se ha observado que personas con sobrepeso presentan una menor activación en estriado dorsal después de consumir comidas palatables (Stice *et al.*, 2008) además de presentar cambios neurobiológicos similares a los que presentan las personas adictas como la disminución de la disponibilidad del receptor a dopamina D₂ en comparación con personas delgadas (de Weijer *et al.*, 2011; Kessler *et al.*, 2014).

Por otro lado, investigaciones que han utilizado modelos de alimentación simulada con sucrosa han demostrado que el flujo de dopamina no sólo es inducido por el contenido calórico, sino que también por las propiedades oro sensoriales de los alimentos (Hajnal *et al.*, 2004), sugiriendo que el sabor dulce es suficientemente gratificante e independiente del valor nutritivo. Ante este hecho surge la duda de cómo podrían impactar los NNS al sistema dopaminérgico pues se ha observado que ratas y ratones muestran un incremento en el flujo de dopamina en respuesta al consumo libre o inyección intraoral de NNS (Mark *et al.*, 1991; Wheeler *et al.*, 2011; Beeler *et al.*, 2012).

5. SISTEMA OPIOIDE ENDÓGENO Y ALIMENTOS DULCES

La conducta alimenticia y la actividad opioide endógena comenzaron a relacionarse a partir de experimentos en donde se observó que, tanto la inyección central de opioides endógenos (Grandison y Guidotti, 1977; Katz, 1980), como la inyección sistémica de agonistas opioides incrementaban el consumo de alimento (Kumar *et al.*, 1971) y que la administración de antagonistas tales como la naloxona reducía la ingesta de alimentos (Brands *et al.*, 1979; King *et al.*, 1979; Lowy *et al.*, 1981). Al mismo tiempo se descubriría que roedores genéticamente obesos presentaban niveles elevados de β -endorfinas en la glándula pituitaria (Margules *et al.*, 1978), y curiosamente, los efectos supresores de la naloxona sobre la alimentación serían aún mayores sobre estos animales. Al respecto, recientemente se demostró que la conducta alimenticia provoca la liberación de opioides endógenos dentro del cerebro independientemente del tipo de alimento (Tuulari *et al.*, 2017), a pesar de que anteriormente se había relacionado la actividad opioide endógena



con la ingesta de sustancias dulces (Yamamoto *et al.*, 2000). Sin embargo, cabe resaltar la existencia de evidencia clínica que asocia la exposición prolongada al consumo de opioides con un incremento en el consumo de azúcar y la ganancia de peso (Mysels y Sullivan, 2011).

La evidencia sugiere que el sistema opioide endógeno, el cual está compuesto por múltiples familias de péptidos tales como endorfinas, encefalinas, dinorfinas y orfanina FQ así como sus múltiples subtipos de receptores (μ , δ , κ , ORL1) (Kelley *et al.*, 2002), está implicado en la regulación de la conducta alimenticia pero sobre todo en el impacto gratificante de los alimentos palatables (Giuliano y Cottone, 2015). Y es que, aunque la dopamina se ha considerado como el principal neurotransmisor responsable de los procesos de recompensa, trabajos como el de Ikemoto y Panksepp (1999), en donde observaron que el bloqueo de receptores de dopamina en NAc interrumpe la búsqueda de sucrosa pero no su consumo (Ikemoto y Panksepp, 1999), cuestionan el papel esencial de la dopamina dentro de estos procesos.

Ante estos resultados, Ikemoto sugiere que el placer no es un proceso unitario y en consecuencia plantea la existencia de al menos dos tipos de placer, ante lo cual el placer sensorial aparecería independientemente de la actividad dopaminérgica. En línea con estos resultados, también se ha observado una preferencia por soluciones dulces sobre el agua en ratones deficientes de dopamina (Cannon y Palmiter, 2003). Además, lesiones inducidas mediante 6-OHDA en el ATV que provocan una disminución de dopamina en el NAc y el estriado, causan una reducción en la conducta motora pero sin alterar las “expresiones faciales de placer”, reacciones hedónicas del gusto medidas con la prueba de reactividad al gusto, sugiriendo que la hedonía no estaría regulada por la dopamina (Berridge y Robinson, 1998).

De esta manera, Kent Berridge y colaboradores proponen que la recompensa inducida por la comida está compuesta de tres procesos: el gustar (la hedonía, o el placer de la comida), el querer (motivación incentiva) y el reforzamiento del aprendizaje (Berridge, 1996; Berridge y Robinson, 1998; Berridge *et al.*, 2010). En este caso, el circuito encargado de la motivación y el reforzamiento de aprendizaje sería el dopaminérgico, en tanto que el sistema opioide endógeno participaría en las respuestas hedónicas y en menor medida también en la motivación (Nicola, 2016).

Esta teoría surge a partir de experimentos en donde se observó que la exposición sistémica a drogas opioides incrementaba las reacciones hedónicas hacia sustancias dulces como la sucrosa, y de manera similar, también aumentaba el apetito (Rideout y Parker, 1996). Posteriormente, tratando de descubrir el origen de estas respuestas hedónicas, Kent Berridge y colaboradores descubrieron puntos calientes hedónicos (hedonic hotspot) en el cerebro, las cuales son zonas dentro de estructuras límbicas, en especial en PV Y NAc (**Figura 8**), zonas en donde la estimulación de los receptores opioides μ incrementan dramáticamente las reacciones hedónicas a sabores dulces (Pecina, 2005; Peciña *et al.*, 2006; Peciña y Berridge, 2013).



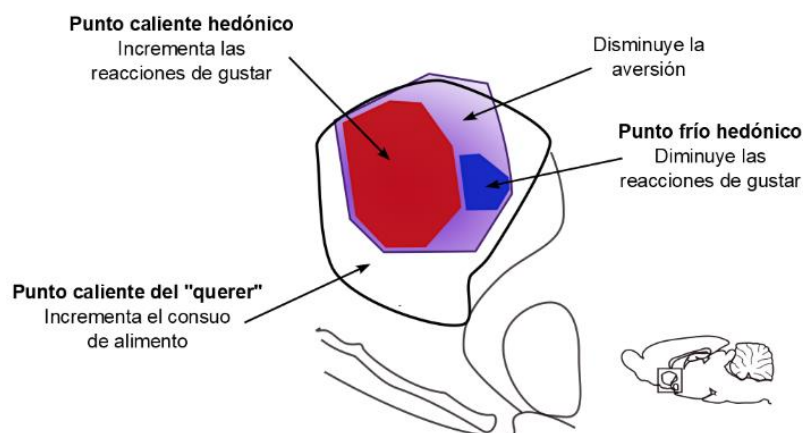


Figura 8. "Puntos calientes" hedónicos en el núcleo accumbens. Los agonistas de los receptores opioides μ que incrementan el consumo de alimento se encuentran restringidos a una específica porción del NAc Shell (el cuadrante rostrocaudal del NAc Shell medial), el cual presenta una alta densidad de estos receptores. El punto caliente hedónico que incrementa las reacciones del "gusto" es tan sólo del tamaño de un milímetro cúbico. Un pequeño "punto frío" hedónico suprime las expresiones del gusto provocadas por la glucosa. Modificado de Pecina y Berridge, 2005.

La evidencia sugiere que la señal opioide que llega a los receptores μ presentes en las MSN que conforman al estriado ventral, muchas de las cuales contienen encefalina y una gran mayoría de sus axones colaterales contienen niveles elevados de encefalina y β -endorfinas en sus terminales axonales (Kelley *et al.*, 2002), controla la liberación de dopamina en última instancia (Tanda y Di Chiara, 1998), involucrando así los tres procesos de la recompensa inducida por la alimentación.

Bajo este paradigma en donde el sistema opioide endógeno controla la alimentación hedónica se ha tratado de explicar la alimentación compulsiva o "adicción a la comida", pues se ha encontrado que los receptores opioides μ están fuertemente involucrados en pacientes que sufren del trastorno compulsivo de alimentación (Binge-eating Disorder; BED) (Nathan y Bullmore, 2009), además de una reducción en la disponibilidad del receptor μ -opioide en mujeres con sobrepeso en comparación con mujeres de peso normal (Karlsson *et al.*, 2015).

Bajo la misma línea, trabajos con roedores que utilizan modelos de alimentación compulsiva inducida por el acceso limitado a un alimento altamente palatable como el azúcar, se ha demostrado que se puede inducir un fenotipo típico de las adicciones. En tan sólo unas semanas bajo este régimen de alimentación, las ratas manifestaron signos de "abstinencia" opiácea en respuesta a la administración de naloxona (3 mg/kg s. c.) probando de esta manera el involucramiento de opioides y sugiriendo una "dependencia" (Colantuoni *et al.*, 2002). De la misma manera, los síntomas de abstinencia fueron evidentes



cuando la comida o el azúcar era retirada por 24 horas (Colantuoni *et al.*, 2002; Avena *et al.*, 2008). Por otro lado, un análisis cuantitativo con PCR y evidencia autoradiográfica reportaron una disminución del ARNm de encefalina (Spangler *et al.*, 2004) y una regulación positiva de la unión al receptor opioide μ en el NAc (Colantuoni *et al.*, 2001). Esto podría significar que la repetida exposición a los atracones de azúcar provoca la liberación de opioides, tales como encefalinas o β -endorfinas, y el cerebro lo compensa con la disminución de la expresión menos de estos péptidos en ciertas regiones y expresando una mayor cantidad de receptores μ (Hoebel *et al.*, 2009).

Respecto a los NNS, sería interesante investigar si el componente oral de la dulzura es suficiente para producir cambios dentro del sistema opioide o también provocar dependencia. En relación a esto último, se sabe que los niveles de β -endorfinas se elevan en el fluido cerebroespinal y el plasma tras el consumo de sustancias dulces, independientemente del contenido calórico (Yamamoto *et al.*, 2000). Además, dentro de la clínica, el consumo de alimentos dulces ha sido asociado con la analgesia en humanos, y se ha postulado que es el sabor, y no la sustancia en sí misma, lo que causa esta analgesia (Barr *et al.*, 1999). También es importante resaltar los resultados de trabajos que han demostrado que el valor de recompensa del sabor dulce, incluso en ausencia de calorías, puede llegar a ser más alto que el provocado por algunas drogas como cocaína, nicotina, anfetaminas, e incluso heroína (Lenoir *et al.*, 2007, 2013; Caprioli *et al.*, 2015; Huynh *et al.*, 2017), ejemplo de ello es que cuando a ratas se les da la opción de elegir entre alguna de estas drogas y sacarina, la mayoría de las veces elegirán sacarina, y aunque también se ha reportado que no siempre sucede este fenómeno (Vanhille *et al.*, 2015), la elección por consumir sacarina no es sobrepasada aun cuando se incrementan las dosis (Lenoir *et al.*, 2007; Caprioli *et al.*, 2015) o por el aumento en el historial del consumo de la droga (Huynh *et al.*, 2017), excepto en el caso de los opiáceos en donde se ha demostrado que un acceso extendido a heroína puede aumentar la elección por esta droga (Lenoir *et al.*, 2013). Esto quizás se deba a que ambos estímulos comparten el mismo sistema de receptores provocando una inhibición competitiva.

6. SISTEMA HOMEOSTÁTICO Y ALIMENTOS DULCES

El objetivo de este trabajo es evaluar el impacto que tienen las sustancias dulces sobre los sistemas neuronales que controlan las conductas hedónicas pues se considera que “la alimentación hedónica es el consumo de alimentos palatables (los cuales son altamente calóricos, es decir que contienen grandes cantidades de azúcares y/o azúcares) en ausencia de déficit nutrimental” (Nicola, 2016). En este sentido, tradicionalmente se ha hecho una separación de estudio entre los mecanismos hedónicos y aquellos que regulan el balance energético, u homeostático, para explicar el consumo de tales alimentos. Y como ya se ha mencionado anteriormente, los sistemas candidatos para el control de los mecanismos hedónicos de la alimentación son el sistema opioide endógeno y el sistema mesolímbico dopaminérgico, no obstante, existe evidencia que sugiere que estos sistemas no son enteramente responsables de consumir de alimentos más allá de las necesidades homeostáticas. De hecho, las neuronas dopaminérgicas se encuentran fuertemente reguladas por señales que reflejan el balance nutrimental, por ejemplo, señales que



comúnmente reportan balance energético negativo y promueven el apetito, tales como orexinas/hipocretinas (España *et al.*, 2011; Patyal *et al.*, 2012), grelina (Quarta *et al.*, 2009; Cone *et al.*, 2014, 2015), neuropéptido Y (NPY) (Quarta *et al.*, 2009) y el neuropéptido relacionado con agouti (AgRP) (Davis *et al.*, 2011) incrementan la actividad dopaminérgica mesolímbica; por otro lado, señales que reportan balance energético positivo y reducen el apetito, como el péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) (Egecioglu *et al.*, 2013), colecistoquinina (Helm *et al.*, 2003), insulina (Mebel *et al.*, 2012; Labouèbe *et al.*, 2013) y leptina (Fulton *et al.*, 2006; Perry *et al.*, 2010; Domingos *et al.*, 2011) tienden a reducir la actividad dopaminérgica mesolímbica.

El sistema homeostático, que regula los patrones de alimentación basados en las necesidades energéticas y la evidencia apunta a que, dentro del cerebro, el hipotálamo es la zona responsable de la regulación homeostática de la energía. En el núcleo arqueado hipotalámico (Arc) existen dos poblaciones neuronales que son preponderadamente estudiadas en el contexto alimentación homeostática y ejercen mecanismos opuestos sobre la ingesta de alimentos: un grupo produce el neuropéptido orexigénico NPY y AgRP, en tanto que el segundo grupo de neuronas expresa los neuropéptidos anorexigénicos proopiomelanocotina (POMC) y el transcrito regulado por cocaína y anfetamina (Roh *et al.*, 2016).

Las neuronas productoras de AgRP son activadas por el ayuno. La ablación genética de neuronas AgRP causa anorexia e inanición en ratones adultos (Gropp *et al.*, 2005), y en ratones alimentados, la estimulación optogenética aguda (Betley *et al.*, 2015) o la estimulación quimiogénica inducen alimentación y conducta dirigida a la alimentación que imita la conducta de animales en ayuno (Nakajima *et al.*, 2016). Asimismo, las neuronas AgRP expresan receptores para una variedad de moléculas, tanto producidas localmente como circulantes, incluyendo leptina, grelina, NPY y melanocortinas (Rossi y Stuber, 2018).

Las neuronas POMC están entremezcladas y tienen una conectividad aferente y eferente similar a las neuronas AgRP (Wang *et al.*, 2015). Se piensa que las neuronas POMC del Arc son funcionalmente opuestas a las neuronas AgRP, co-expresan receptores a β -endorfinas y al transcrito regulado por cocaína y anfetamina y son sensibles a hormonas circulantes como leptina e insulina (Rossi y Stuber, 2018), ya que se ha observado que la leptina induce la expresión del gen de expresión temprana *Fos* en las neuronas POMC (Elias *et al.*, 1999). Por otro lado, la ablación de las neuronas POMC provoca hiperfagia y obesidad en ratones (Zhan *et al.*, 2013). Al mismo tiempo, la activación prolongada de estas células suprime la alimentación a través de la activación de receptores de melanocortinas y reduce el peso corporal (Aponte *et al.*, 2011). Sumado a esto, las neuronas POMC tienen proyecciones hacia otras áreas neuronales dentro del hipotálamo, tales como el núcleo paraventricular (NPV), hipotálamo ventromedial (HVM) y el hipotálamo lateral (HL), implicadas en la regulación de la alimentación (Bouret, 2004).

Evidencia reciente sugiere que el consumo de azúcar afecta diferencialmente estas dos vías opuestas. En ratones, tras una ingesta previa de sucrosa, se observó un aumento en el consumo de alimento, acompañado de una reducción en la expresión del NPY y AgRP en el Arc inmediatamente después de la ingesta de azúcar. No obstante, 30-60 minutos después de la ingesta e inmediatamente antes del consumo de alimento, los ratones mostraron un incremento de ambos péptidos, potenciando la ingesta calórica (Gaysinskaya



et al., 2011). En otro estudio, ratones mantenidos bajo una dieta rica en grasas y con acceso limitado a una solución de sucrosa presentaron una disminución en la síntesis de ARNm de POMC en el hipotálamo. Adicionalmente, estos ratones consumieron una mayor cantidad grasas en los días en que la solución de azúcar estaba disponible, sugiriendo que la reducción en la señalización pudiera facilitar la hiperfagia (Mitra *et al.*, 2010).

Por su parte, pocos trabajos han sido realizados sobre los efectos que puedan provocar los NNS en el cerebro y en especial sobre el sistema homeostático. Para citar un par de ejemplos se encuentra el estudio de Fukushima y colaboradores en 2014, en donde midieron la actividad de neuronas productoras de la hormona concentradora de melanina (MCH) y orexina en LH, ambos péptidos orexigénicos, en ratas privadas de alimento en respuesta al consumo de glucosa, sacarina o agua, a través de la expresión de la proteína de unión al elemento de respuesta de AMP cíclico fosforilado (pCREB), y se encontró que sólo la glucosa redujo la expresión de pCREB en neuronas MCH en todas las ratas, en tanto que la glucosa y la sacarina, pero no el agua, redujeron significativamente la expresión de pCREB en neuronas orexinérgicas de ratas hembra (Fukushima *et al.*, 2014). Y, de manera similar, Alcaraz-Iborra y colaboradores (2014) se encontraron que el consumo compulsivo tanto de sucrosa como de sacarina provoca una reducción en la expresión del ARNm de orexina en el LH de ratones (Alcaraz-Iborra *et al.*, 2014).

Además de los mecanismo centrales aquí descritos, el consumo de alimento también se encuentra modulado por múltiples señales periféricas (**Figura 9**), entre las cuales se incluyen péptido y hormonas (p. ej., leptina, insulina, colecistoquinina, grelina) secretadas por los intestinos, hígado, estomago, páncreas y tejido adiposo, señales que son integradas en el Arc, a través de las vías aferentes del nervio vago o a través de la barrera hematoencefálica (Shima *et al.*, 1990; Heijboer *et al.*, 2006). Las señales originadas por los nutrientes son también transportadas hacia el hipotálamo y otras áreas del cerebro; no obstante, cabe mencionar que las diferentes estructuras moleculares de los azúcares resultan en diferentes perfiles de secreción gastrointestinal, induciendo efectos metabólicos y endócrinos diferentes tanto a nivel periférico (p. ej., hígado e intestinos) como central (hipotálamo) (Shima *et al.*, 1990; Cha *et al.*, 2008).



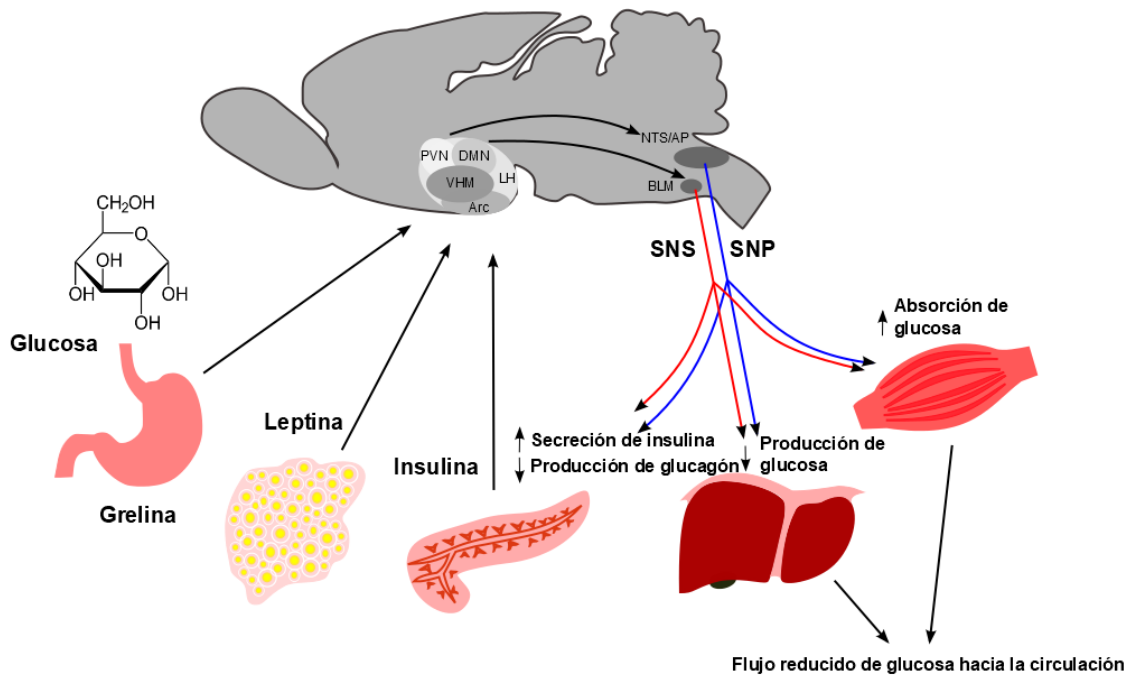


Figura 9. El cerebro percibe las señales metabólicas periféricas a través de hormonas (insulina, leptina y demás) y nutrientes (glucosa) para regular el metabolismo de la glucosa. Los sitios de convergencia de estas señales metabólicas son el hipotálamo y el tallo cerebral. El sistema nervioso autónomo interviene en el cerebro y órganos metabólicos periféricos para modular la secreción, producción hepática de glucosa y absorción muscular de glucosa. AP, área postrema; Arc, núcleo hipotálámico arqueado; BLM, médula basolateral; DMN, núcleo hipotálámico dorsomedial; HL, núcleo hipotálámico lateral; NTS, núcleo del tracto solitario; SNS, sistema nervioso simpático; SNP, sistema nervioso parasimpático; PVN, núcleo hipotálámico paraventricular; VHM, hipotálamo ventromedial.

La respuesta fisiológica normal ante el consumo de carbohidratos incluye la secreción de hormonas como la insulina, colecistoquinina (CCK), polipéptido Y (PPY), péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1), polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP). El mecanismo empieza cuando los receptores T1R2-T1R3 de la lengua son activados por la glucosa y se inicia la fase cefálica, proceso que se refiere a la liberación de insulina en respuesta a la estimulación sensorial en anticipación a la absorción de nutriente (Pearlman *et al.*, 2017). Tras la ingestión de azúcares se presenta un aumento de glucosa en la sangre y las células enteroendocrinas del intestino delgado aumentan la secreción de GLP-1, GIP, PYY y en menor medida CCK, las cuales estimulan a las células pancreáticas beta para aumentar la secreción de insulina y promueven el consumo celular de glucosa para obtener energía (Suzuki *et al.*, 2012; Depoortere, 2015).

Se sabe que la detección de azúcares en las células entéricas se realiza a través de receptores unidos a proteína G (GPCR) y también por transportadores de azúcar (p. ej. GLUT2, GLUT5, SGLT1 [cotransportador de sodio-glucosa 1] y SGLT8) (Ochoa *et al.*, 2014). De hecho, desde la demostración de la presencia de receptores T1R2-T1R3 en las



células del tracto gastrointestinal en roedores (Hofer *et al.*, 1996) y en líneas celulares de enteroendócrinas de humano (Rozengurt *et al.*, 2006) se ha cuestionado la participación de estos receptores en las respuestas fisiológicas y la conducta alimenticia en el humano pues datos de estudios *in vitro* han demostrado un incremento en la absorción de glucosa después de un tratamiento con NNS en ratones (Mace *et al.*, 2007); sin embargo, en trabajos posteriores con humanos no han sido confirmados estos resultados (Bryant *et al.*, 2014; Sylvetsky y Rother, 2016) y tampoco se encontraron diferencias en la liberación de incretinas o el nivel de glucosa tras la administración intragástrica o duodenal de NNS en humanos (Ma *et al.*, 2010; Steinert *et al.*, 2011) , e inclusive, algunos autores han reportado una disminución en la liberación de incretinas tras el consumo de NNS en comparación con la glucosa (Wu *et al.*, 2012). En definitiva, los resultados obtenidos de los estudios que abordan los efectos de los NNS sobre el metabolismo de la glucosa o la liberación de incretinas y por tanto su efecto sobre la conducta alimenticia aún son contradictorios, tal como lo menciona (Romo-Romo *et al.*, 2016).



JUSTIFICACIÓN

Debido a que se ha establecido una asociación entre el consumo de azúcar y efectos negativos en la salud de los consumidores (sobrepeso, obesidad, diabetes tipo 2, síndrome metabólico) los edulcorantes no nutritivos han surgido como una alternativa benéfica (Swithers, 2013), sin embargo, son pocos los estudios que se han realizado respecto al efecto que tienen los edulcorantes, o sustitutos de azúcar, sobre el sistema de recompensa pues la mayoría se ha enfocado en otros aspectos de la salud del consumidor (Figuewicz *et al.*, 2009; Anton *et al.*, 2010). Al respecto, existen estudios que reportan niveles elevados de dopamina en el NAc de ratas después de consumir azúcar de manera crónica (Rada *et al.*, 2005), e incluso, cuando a las ratas se les expone a un consumo intermitente de azúcar llegan a desarrollar síntomas de dependencia (Avena *et al.*, 2005). Por otra parte, y de manera interesante, han surgido trabajos que sugieren que el estímulo hedónico producido por la dulcificación intensa tiene mayor relevancia que el placer producido por una droga tan potente como la cocaína, pues cuando a ratas se les da a elegir entre una solución de sacarina y una inyección intravenosa de cocaína optan por consumir el edulcorante (Lenoir *et al.*, 2007). Finalmente, es relevante mencionar que existen reportes de que la etapa de mayor sensibilidad del sistema de recompensa es en la adolescencia (Naneix *et al.*, 2016). Tomando todo esto en cuenta es necesario desarrollar trabajos que nos ayuden a dilucidar el impacto que pueda tener un estímulo crónico producido por una sustancia dulce, aunque sin aporte de calorías, sobre puntos hedónicos como el NAc y estriado dorsal.



HIPÓTESIS

- Si el extracto de Stevia y Acesulfame-K activan el sistema mesolímbico de la recompensa, entonces se observará una preferencia de consumo de edulcorantes además de una mayor expresión del factor de transcripción Δ FosB, tanto en núcleo accumbens como en estriado dorsal.



OBJETIVOS

General

- Evaluar el consumo de extracto de estevia, acesulfame K y su efecto sobre el sistema de recompensa mediante la detección del factor de transcripción Δ FosB en ratas macho de la cepa *Wistar* adolescentes.

Específicos

- Determinar el consumo y preferencia de dos edulcorantes como el extracto de estevia y acesulfame K en ratas macho adolescentes
- Detectar y cuantificar la inmunoreactividad basal a Δ FosB en el NAc y estriado de ratas macho adolescentes.
- Detectar y cuantificar la inmunoreactividad a Δ FosB en el NAc y estriado de ratas macho adolescentes y con consumo de extracto de estevia y acesulfame K.
- Evaluar si los edulcorantes influyen en el consumo de alimento y en el peso de los individuos expuestos a su consumo.



MATERIALES Y MÉTODO

1. ANIMALES Y CONDICIONES DE ALOJAMIENTO

Se trabajó con ratas macho adolescentes (28-46 días postnatales) de la cepa Wistar (Spear, 2000), obtenidos mediante cruce en el cuarto de unidad experimental del Hospital de Grandes Especies de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, los cuales fueron manejados conforme a la NOM-062-ZOO-1999 (**Figura 10**). Los animales se mantuvieron alojados en contenedores de acrílico con cama de viruta, ciclo invertido de luz/oscuridad de 12 horas, temperatura (21° C) y humedad controladas, agua purificada y dieta estándar (Purina Rodent Laboratory Chow 5001) *ad libitum* hasta el inicio del experimento.



Figura 10. Animales alojados en contenedores de acrílico con sus respectivos bebederos.

2. OBTENCIÓN DE CAMADAS

Para obtener las crías con las cuales se trabajaría se colocó a un macho de la cepa Wistar en etapa reproductiva junto con tres hembras adultas de la misma cepa pero sin consanguinidad durante 16 días. Al final de este periodo se retiró al macho y se confirmó la preñez de las hembras. Posteriormente se destetaron las crías al día 21 postnatal y al día 30 postnatal se asignaron a algún grupo experimental.



3. GRUPOS Y CONSUMO DE EDULCORANTES

Desde los 30 hasta los 50 días postnatales (DPN), los machos adolescentes fueron alojados individualmente en cajas de acrílico, bajo las mismas condiciones ambientales de luz y humedad, alimento ad libitum, y fueron asignados a uno de los siguientes 5 grupos (**Figura 11**), donde contaron con acceso a una solución de edulcorante no calórico (extracto de Stevia o Acesulfame-K), cuya concentración fue elegida con base en reportes anteriores (Swithers *et al.*, 2009; Sclafani *et al.*, 2010), bajo dos condiciones de consumo distintas (obligado y libre elección):

1. Grupo control (CON) (n=8): contaron con acceso continuo a dos bebederos con el mismo volumen de agua.
2. Grupo elección libre de extracto de Stevia (ELS 0.2%) (n=8): contaron con acceso continuo a un bebedero con agua y otro adicional con el mismo volumen de solución al 0.2% de extracto de Stevia (Gapelli Ingredients, México).
3. Grupo consumo obligado de extracto de Stevia (COS 0.2%) (n=8): tuvieron acceso continuo a dos bebederos con el mismo volumen de solución al 0.2% de extracto de Stevia (Gapelli Ingredients, México).
4. Grupo elección libre de Acesulfame-K (ELAcK 0.2%) (n=8): contaron con acceso continuo a un bebedero con agua y otro adicional con el mismo volumen de solución al 0.2% de Acesulfame-K (Carbo Aquimex, México).
5. Grupo consumo de Acesulfame K (COAcK 0.2%) (n=8): tuvieron acceso constante a dos bebederos con solución al 0.2% de Acesulfame-K (Carbo Aquimex, México).

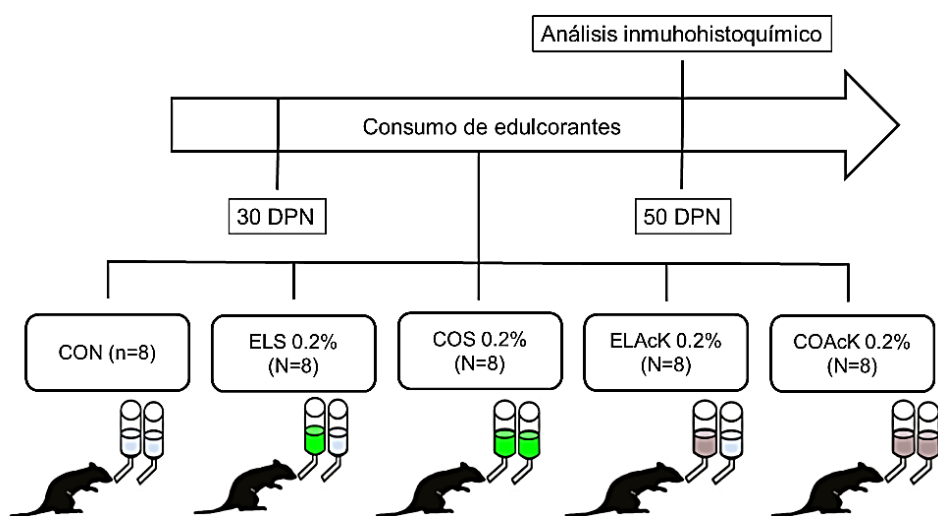


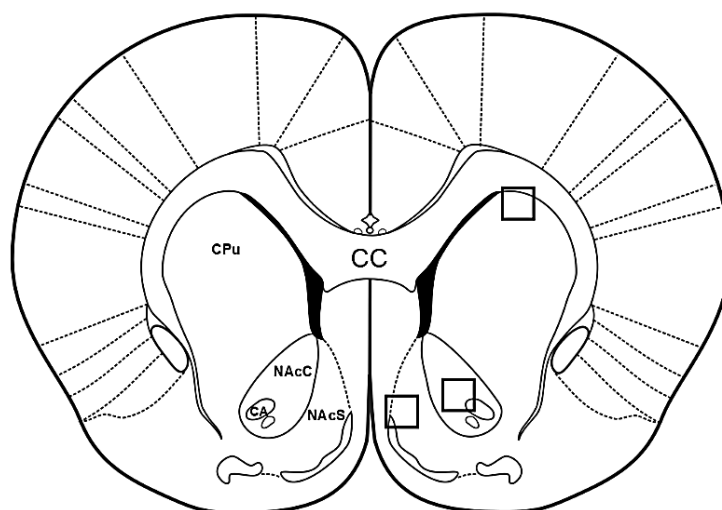
Figura 11. Representación esquemática del diseño experimental. Los machos adolescentes fueron divididos en cinco grupos con acceso a uno de dos edulcorantes no calóricos bajo dos condiciones distintas durante 20 días (30 DPN-50 DPN). Los animales fueron sacrificados al final del tratamiento y se extrajo su cerebro para el análisis inmunohistoquímico. CON, control; ELS 0.2%, elección libre de extracto de Stevia; COS 0.2%, consumo obligado de extracto de Stevia; ELAcK 0.2%, elección de Acesulfame-K; COAcK 0.2%, consumo obligado de Acesulfame-K.



El consumo de líquidos fue medido diariamente mediante el peso del bebedero con y sin líquido y fue registrado en mililitros. De la misma manera, el peso y el consumo de alimento fue medido diariamente durante los 20 días de tratamiento y se registraron en gramos. La fase conductual del experimento se realizó en el cuarto de unidad experimental del Hospital de Grandes Especies de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, una hora antes o después del inicio del periodo de oscuridad. Al finalizar el tratamiento, los animales fueron sacrificados y su cerebro fue extraído para el análisis inmunohistoquímico. El tamaño de grupo se calculó de tal manera que los datos fueran representativos y tratando de sacrificar la menor cantidad posible de animales.

4. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO

En el último día de tratamiento, las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (63 mg/kg) vía intraperitoneal y perfundidas con solución salina (0.9%) seguida de paraformaldehído (4%) en buffer de fosfato (PB) 0.1 M pH 7.4. Los cerebros fueron removidos y mantenidos en solución fijadora durante una noche para después ser tratados en concentraciones ascendentes de soluciones de sucrosa (10, 20 y 30%). Secciones coronales de 40 μ m fueron obtenidas del NAc y estriado dorsal (bregma +2.5 a +1.00 mm) (**Figura 12**) (Paxinos y Watson, 2007) usando un criostato (Hyrax C25 Microm; Zeiss, Mainz, Alemania) y colocados en flotación en un medio de PB 0.1 M.



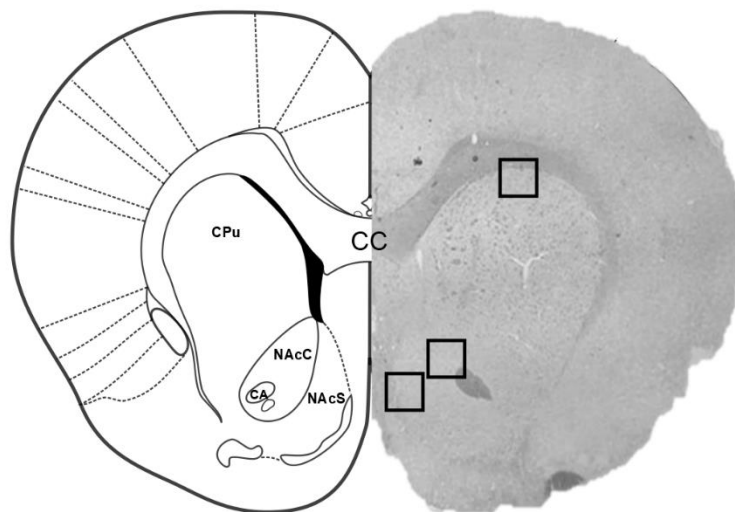


Figura 12. Esquema del corte coronal que representa las áreas de interés del experimento. Los cuadros dibujados en el lado derecho representan las zonas de conteo de las células inmunorreactivas a Δ FosB. CC, cuerpo calloso; CPu, caudado putamen; NAcC, núcleo accumbens core; NAcS, Núcleo accumbens Shell.

Cuatro cortes fueron seleccionados y se procedió a hacer cuatro lavados de 10 minutos con PB 0.1M. Tras los lavados, los cortes se mantuvieron en solución al 0.5% de peróxido de hidrógeno por 10 minutos. Seguidamente, se hicieron otros cuatro lavados y se incubaron los cortes en una solución de bloqueo (3% de suero de cabra y 0.3% de Tritón X-100) durante 1 hora. Posteriormente, los cortes fueron incubados en una solución 1:500 de anticuerpo primario de conejo anti FosB (sc-48; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, California, EUA) en PB 0.1M con 0.3% de Tritón X-100 por 96 horas a 4°C.

Transcurrido este tiempo, se hicieron otros cuatro lavados con PB 0.1M y los cortes fueron incubados en una solución 1:250 de anticuerpo secundario biotinilado de cabra anti IgG de conejo (B2770; Life Technologies, Waltham, Massachusetts, USA) por 2 horas a temperatura ambiente. Luego se sustituyó esta solución con un complejo de avidina-biotina-peroxidasa (PK-6100; Vector Laboratories, Burlingame, California, EUA) y los cortes se incubaron por 1 hora a temperatura ambiente. Finalmente, tras cuatro lavados con PB 0.1M, el marcaje fue revelado con 0.06% de diaminobenzidina (D3939-1SET; Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA), 1% de níquel (577995-5G; Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA) y 1% de cobalto (203076-5G; Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA) y 0.07% de peróxido de hidrógeno en PB 0.1M, la reacción se dejó actuar hasta observar presencia de marcaje. Este procedimiento es una modificación de la técnica de inmunohistoquímica reportada por (Venebra-Munoz *et al.*, 2014)

Tras el revelado, los cortes fueron montados en portaobjetos gelatinizados, deshidratados en concentraciones ascendentes de alcohol (60%, 70% y 90%), cubiertos con resina sintética y etiquetados. Microfotografías digitales con un área de 13 300 μm^2 fueron tomadas con ayuda de un microscopio óptico con cámara digital (Motic DMB3-223; Richmond, Columbia Británica, Canadá). El conteo se realizó usando el programa digital



ImageJ 1.43 (2010, NIH, Bethesda, Maryland, USA) y se hizo un conteo de células inmunoreactivas. El análisis inmunohistoquímico se realizó en el Laboratorio de Conducta Animal de la Facultad de Ciencias.

5. VARIABLES DE ESTUDIO

- Independientes: edad, tratamiento, tiempo de consumo.
- Dependientes: consumo de líquidos, preferencia, consumo de alimento, peso, expresión de Δ FosB.

Tabla 3. Listado y clasificación de las variables consideradas en el estudio.

<i>Variable</i>	<i>Tipo de variable</i>	<i>Escala de medición</i>
<i>Edad</i>	Cualitativa Ordinal	DPN
<i>Tratamiento</i>	Cualitativa	Nominal
<i>Tiempo de consumo</i>	Cuantitativa continua	Días
<i>Preferencia</i>	Cuantitativa continua	ml
<i>Consumo líquidos</i>	Cuantitativa continua	ml
<i>Consumo alimento</i>	Cuantitativa continua	g
<i>Peso</i>	Cuantitativa continua	g
<i>Expresión de ΔFosB.</i>	Cuantitativa discreta	No. de células marcadas



6. ANÁLISIS DE DATOS

El diseño experimental es un diseño completamente aleatorio. Todos los valores están expresados como $\text{media} \pm \text{error estándar}$. El análisis estadístico de los datos del peso fueron evaluados mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y un valor de $P < 0.05$, las diferencias entre grupos fueron analizadas mediante una prueba post hoc de Tuckey con un valor de $P < 0.05$. Los datos conductuales como la ingesta de líquidos y el consumo de alimento fueron analizados usando una ANOVA de dos vías (Tratamiento \times Días) de medidas repetidas ($P < 0.05$) y una prueba post hoc LSD de Fisher para las comparaciones entre grupos. Además se realizó un análisis de correlación de Pearson ($P < 0.05$) entre las variables de consumo. Finalmente, los valores obtenidos del conteo de células inmunorreactivas se analizaron mediante una prueba ANOVA de una vía y un valor de $P < 0.05$, cuando se encontraron diferencias se utilizó una prueba post hoc de Tukey con un valor de $P < 0.05$ para encontrar diferencias significativas entre grupos. Todos los análisis se realizaron usando el programa GraphPad Prism (v 6.01; GraphPad software, Inc., California, USA).



RESULTADOS

1. ARTÍCULO DE REVISIÓN

Non-nutritive sweeteners, a sweet reward: neurobiological bases of sweet taste perception and dopaminergic system activity.

Luis A. López-Muciño¹, Nadi F. Salaya-Velázquez¹, Pedro Sánchez-Aparicio², Sergio Recillas-Morales², Andrés Domínguez-Guadarrama³, Arturo Venebra-Muñoz⁴.

¹Maestría en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad Autónoma del Estado de México, México.

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, México.

³Tecnológico de Estudios Superiores de Villa Guerrero, México.

⁴Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, México.

Keywords: artificial sweeteners, dopamine, endogenous opioids, sucrose, addiction.

Correspondence: avenebram@uaemex.mx

Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México

Instituto Literario #100, Toluca Estado de México

Abstract

Based on the association between the high consumption of sugar-sweetened beverages and the development of chronic diseases such as overweight, obesity, type 2 diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases, non-nutritive sweeteners appeared as a beneficial alternative. The drive to consume palatable food goes beyond the need to satisfy hunger since sugar can activate the same mesolimbic reward pathway as recreational drugs, even developing an addiction-like phenotype related to opioid dependence. Thus, the forthcoming question is whether the non-nutritive sweeteners may be able to establish addictive behaviors despite their caloric lack. The objective of this review is to identify the effects of non-nutritive sweeteners on the reward pathway, based on animal models and outlining those realized in humans.

Introduction

Sweeteners are natural or artificial food additives many times sweeter than sugar yet offer less or no energy when ingested [1], non-nutritive sweeteners (NNS) provide no energy when consumed [2]. Regarding the legal aspects of the distribution and use of sweeteners in different parts of the world, the Food and Drug Administration (FDA) in the United States has



approved six artificial sweeteners: sucralose, aspartame, saccharin, acesulfame-k, neotame, and adventame; and two natural sweeteners: steviol glycosides and Luo Hang Guo extract, labeled as “generally recognized as safe” (GRAS)[3]. In Europe, the European Food Safety Authority (EFSA) approved acesulfame-k, aspartame, aspartame-acesulfame salt, cyclamate, neohesperidin dihydrochalcone, saccharin, sucralose, thaumatin, neotame and steviol glycosides [4].

Based on the association between the high consumption of sugar-sweetened beverages and the development of chronic diseases such as overweight, obesity, type 2 diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases, NNS appeared as a beneficial alternative [5]. These substances are ubiquitous and found in a wide range of products, including a wide variety of foods, drinks, diet beverages, drugs and hygiene products [1]. Between 1999 and 2004 more than 6, 000 new products containing at least one artificial sweetener were launched in the United States [6]. Likewise, an annual growth in the intake of NNS at approximately 5.1% per year from 2008-2015 was registered between 2008-2015, mainly in Latin America and China [7].

The drive to consume palatable food goes beyond the need to satisfy hunger since sugar can activate the same mesolimbic reward pathway as recreational drugs do, such as alcohol, nicotine, cocaine, heroin, etc., [8]. The overlapping of these brain pathways leads to the conclusion that at some point in evolution the establishment of reward mechanisms by nutritive foods was necessary, thus when found, their intake triggered the activation of hedonic hotspots leading to an enhanced intake and therefore allowing the survival during long-lasting starvation [9]. Considering sugar’s hedonic properties and the increasing NNS consumption, the following questions arose: do palatable but non-nutritive foods activate the reward pathway as sugar? If so, can addictive behaviors be stimulated as well?

Taste perception

To survive in the environment, mammals developed diverse mechanisms that could help to maintain the organism’s integrity. The sense of taste enables to assess information about the quality and nutritional value of food, perceive and distinguish among foods, to select nutritious diets, and to initiate, sustain and terminate ingestion, for the purpose of maintaining energy balance. Within the last years, five basic taste modalities perceivable by humans have been identified: sweet, sour, bitter, salty, and umami [10]. This discriminatory ability provides a critical sensory input as sweet taste and umami allow recognition of nutritionally rich food sources, while bitter taste elicits aversive responses to noxious and toxic stimuli [11].

Distributed throughout the tongue exists three kinds of onion shape structures known as taste buds, typically composed of 50-100 taste receptor cells (TRCs): fungiform are distributed across the anterior surface, circumvallate are placed at the



back level, and foliate are located to the sides of the tongue; although previous studies [12–14] have also reported them at the level of palate, epiglottis, and esophagus. TRCs are cells specialized in taste sensing and sweet taste is mediated by the heterodimeric G-protein-coupled receptor (GPCR) T1R2-T1R3, expressed in about 30% of cells from taste buds [15]. Both T1R2 and T1R3 belong to the class C GPCR family which structure comprises of a large extracellular domain called the Venus Flytrap Domain (VFTD), a seven-helix Transmembrane Domain (TMD), and a Cysteine-Rich Domain (CRD) which connects the two before mentioned domains [10]. To date, no experimental structure of the T1R2-T1R3 receptor is available, nonetheless computational modeling based on the experimental structure of metabotropic glutamate receptor (mGluR) suggest the existence of multiple active sites for sweet tastants in VFTD, TMD from T1R3, and in CRD [16, 17].

When sweet ligands activate a signal transduction pathway, G $\beta\gamma$ subunits from the G protein gustducin (G α_i) coupled to T1R2-T1R3 are released and activate to phospholipase C β_2 (PLC β_2), which hydrolyze phosphatidyl-inositol 4, 5-biphosphate (PIP $_2$) to inositol trisphosphate (IP $_3$) and diacylglycerol (DAG). Then IP $_3$ binds to IP $_3$ receptor (IP $_3$ R $_3$) leading to the release of Ca $^{2+}$ from endoplasmatic reticulum and the activation of the transient receptor potential member 5 (TRPM5) channels letting Na $^+$ entry, membrane depolarization, and activation of voltage-gated cation channels (VGCCs), resulting in the release of ATP through pannexin and connexin hemichannels [18]. Nevertheless, Margolskee points out that this pathway is only activated by nonsaccharide sweeteners and proposes a second pathway for saccharide sweeteners, in which the sweet tastant and the sweet receptor bonding activate adenylyl cyclase (AC) generating cAMP. The cAMP then acts directly, via ion channel, or indirectly, via activation of a protein kinase, to depolarize the TRC membrane via a release of Ca $^{2+}$, resulting in the ATP release as well [19](**Figure 1**).

The released ATP binds to P2X2/P2X3 purinergic receptor located at the adjacent taste nerve fibers [20]. The TRC placed on the palate and the anterior tongue are innervated by the chorda tympani and greater superior petrosal, branches of the facial nerve (VII); on the other hand, TRCs found on the epiglottis, oesophagus and posterior tongue are innervated by the lingual branch of the glossopharyngeal nerve (IX) and the superior laryngeal branch of the vagus nerve (X) [12]. In rodents, taste information recovered by nerves VII, IX, and X is transmitted to the nucleus of the solitary tract (NTS), first relay station in the medulla oblongata, to reach later the parabrachial nucleus (PbN) at the level of the pons, and from PbN to the parvocellular part of the ventral posteromedial thalamic nucleus (VPMpc) (**Figure 2a**); however, in primates (including humans), neurons from NTS project directly to VPMpc from where the pathway connects to the primary gustatory cortex, a cerebral cortical region located along the border between the anterior insular cortex (IC) and the frontal operculum (FO) to finally reach the orbitofrontal cortex (OFC), which is known as the secondary gustatory cortex [21] (**Figure 2b**).



Mesolimbic reward pathway activation

In rodents, taste stimuli coming from the tongue have their first relay at a central level in NTS from where second order gustatory neurons project to PbN, from this point the gustatory pathway bifurcates into two pathways: first, a dorsal “sensory” pathway which ends at gustatory cortices; second, a ventral “affective” pathway responsible for hedonic and rewarding gustatory inputs, which projects to ventral striatum, mainly amygdala, lateral hypothalamus (LH) and the bed nucleus of the stria terminalis (BNSTD) [22, 23]. However, there is no evidence about the existence of the second relay in human and nonhuman primates. This lack of evidence suggests that gustatory projections coming from the periphery reach NTS to project directly to VPMpc [24], subsequently, gustatory projections enter the primary gustatory cortex to identify taste and intensity, and then for reward value in OFC; finally, these projections return to the basal ganglia, mainly ventral striatum and part of the head of the caudate nucleus [25].

The ventral striatum is part of a set of brain regions responsible for determining reward from sensory neural activity elicited by peripheral stimuli. This system is constituted by 3 neural circuits: a descendant link running from the medial forebrain bundle to the ventral tegmental area (VTA) with glutamate as neurotransmitter; an ascending link running from VTA to nucleus accumbens (NAc) and with dopamine as neurotransmitter; and a further ascending link running from NAc to ventral pallidum, using gamma-aminobutyric acid (GABA), Substance P, and enkephalin as conjoint neurotransmitters [26]. Among this 3 circuits, the second one is identified as the key component in reward assessment, where together VTA and NAc, along with amygdala, BNST, lateral septal area and HL, are denominated mesolimbic reward pathway [27]. Due to its hedonic properties, palatable food like sugar can trigger this same mesolimbic reward pathway as alcohol, nicotine, and other recreational drugs do [8]. In fact, Ahmed and col., mention that people have reported consuming sweet foods in order to experience rewarding sensations, to cope with stress, pain or fatigue, to enhance cognition and/or to ameliorate bad mood, demonstrating that sweet foods can elicit drug-like psychoactive effects, although at a lesser extent [28].

Interestingly, murine models have exposed that chronic intermittent access to a 10% sucrose solution may induce an addiction-like phenotype, in other words, increased extracellular dopamine release in NAc shell [29], increased dopamine D₁ receptors binding in NAc core and shell, decreased D₂ binding in dorsal striatum, as well as increased opioid μ ₁ receptor binding in cingulate cortex, hippocampus, locus coeruleus and NAc shell [30]. Moreover, when sugar is removed after its dependence is recognized, or an opioid antagonist as naloxone is administered, signs of opiate-like withdrawal emerge,



these include somatic signs such as teeth chattering, forepaw tremor, and head shaking, besides a decreased level of dopamine with a rise in acetylcholine in NAc [31].

The study of the effects of the ingestion of palatable foods in the human brain is more complex than in rodent models, nevertheless, functional neuroimaging has enabled to clear up the feeding reward effects in humans. It is known that palatable foods triggers OFC, the anterior cingulate cortex, IC, amygdala, ventral and dorsal striatum, ventral pallidum (VP), mesolimbic dopamine projections and deep brainstem sites [32–34], as well as a dopamine released correlating with the degree of experienced pleasure [35]. Also, craving-related changes have been identified in the hippocampus, insula, and caudate, areas involved in drug craving as well [36]. Interestingly, people with overweight show reduced activity in the dorsal striatum after palatable food ingestion [37]; also, people with obesity or overweight present neurobiological changes similar to drug-dependent individuals, for instance, lower values of striatal D₂ receptor compared with slim people [38, 39]. Added to the above, a decreased μ -opioid receptor availability in women with overweight compared with control has been reported, although in such study no difference in D₂ receptor availability was found [40].

Mesolimbic pathway activation induced by non-nutritive sweeteners

Unlike natural sweeteners, a partial activation of the reward pathway by artificial sweeteners has been hypothesized due to sweetness decoupled from caloric content [6], that is, sugar containing both hedonic and caloric components. Frank and col., reported that both sucrose and sucralose activate taste (IC, FO) and reward pathways (stratum), proving that sucrose elicits a greater response compared to sucralose, even more, only sucrose stimulation engages activity in the VTA and substantia nigra [41]. Also, Chambers and col., found activity differences in brain regions related to the reward process induced by oral exposure to glucose nor saccharine, while both solutions evoked similar activity in IC/FO and dorsolateral prefrontal cortex, only glucose activated anterior cingulate cortex and the right caudate [42]. Smeets and col., found that the right amygdala was activated most by a non-caloric beverage than by a caloric one before consumption while the caloric drink elicited stronger striatal activation than the non-caloric drink. This evidence suggests that the brain can tell apart caloric and non-caloric beverages [43].

On the other hand, Green and Murphy used functional magnetic resonance imaging (fMRI) to prove that regular diet soda consumers showed a more widespread activation to both saccharin and sucrose in reward-processing brain regions (OFC, lentiform nucleus), and a greater activation of the dopaminergic midbrain like the VTA, and amygdala [44]. Consistently, Rudenga and Small identified an inverse relationship between the amygdala and insula in response to sucrose and NNS intake [45], these results support the idea of an alteration in feeding behavior induced by a long-lasting NSS consumption



as amygdala and insula have been associated with oral sensation and homeostatic and reward integration [46–48]. In contrast, Griffioen-Roose and col., published a work in which no significant changes were found in the striatum and thalamus of subjects exposed to a conditioning program where a caloric and a non-caloric version of yogurt or beverage was offered randomly; yet a differential activity in primary sensory areas (precentral gyrus and rolandic operculum) induced by the nutritive or non-nutritive versions of the soft drinks was found; it is also worth noting that intake of both versions of the soft drinks was greater after the conditioning [49]. This leads to the conclusion that the usual consumption foods and beverages containing NNS could cause an impairment in sweet food reward processing but as NNS are found typically in blends thus making it difficult to establish clear causality in human studies.

Finally, it is worth noting that rodent models have demonstrated that intense sweetness reward can surpass drug reward, even in calorie absence [50–53]. That is, when rats can choose between a drug and saccharine, most of the times the latter will be chosen [54] and this choice is not affected by increasing doses [50, 52] nor following an extensive use of the drug [51], but for the case of opiates, extended heroin access surpassed saccharin election [53], possibly due to functional differences in the dopaminergic system to a post-synaptic level induced by palatable food and drugs [52]. This sweet reward preference is seen as well in non-consummatory experiments with a preference for cues related to saccharine delivery rather than cues related to cocaine or heroin [55], and even, an incubation of saccharin craving has been demonstrated [56] which suggests that taste alone is rewarding enough to drive feeding behavior and food search.

Helpful or deleterious on consumers' health?

The widespread and indiscriminate use of non-caloric substitutes for sugar has allowed obtaining epidemiological data and to observe the effects of these products on consumers' health [57]. Epidemiological studies with sweeteners are focused on metabolic effects, and although the intake of artificial sweeteners has been associated to diabetes, metabolic syndrome, cardiovascular diseases, and bladder, breast, and ovary cancer, there is still a need to study the consequences in a long-term period [5].

Since 1970, the FDA banned the use of cyclamate due to studies indicating a great correlation between the presence of bladder tumors and an excessive cyclamate intake. Subsequent studies showed different results arguing a variance in carcinogenic mechanisms among species, for instance, in rodents a high osmolality is seen in urine which promotes a precipitation of crystals containing calcium phosphate. Such crystals are toxic for the outer epithelial layer in the bladder, and their presence leads to hyperplasia and the development of regenerative tumors, which does not happen in humans [58, 59]. On the other hand, studies conducted with different designs provide data which indicates that a sustained



sweeteners' intake increases the risk of cancer, although authors declare the need to carry out more studies before a relationship between artificial sweeteners' intake and cancer development could be determined [59]. **Table 1** shows studies that establish a positive relationship between different types of cancer and prolonged intake of artificial sweeteners. Artificial sweeteners' consumption in childhood is associated with a gain of weight, consequently favoring the development of metabolic diseases like diabetes and hypertension [63]. Thus, long-term studies aiming to determine a cause between beverages containing NNS consumption and metabolic diseases have been executed [3]. In **Table 2** there is a list of works reporting a positive relationship between the prolonged use of artificial sweetener, or diet drinks containing one or more NNS, and metabolic diseases.

Conclusion

The use of sugar in food and beverages has decreased since the entrance of NNS to the market, inciting a change in caloric ingestion. Thus, while at the beginning NNS emerged as a suitable alternative against an obesity epidemic, as well as a chance for diabetic patients to ingest sweet food, recent data suggests that this could not be all true. Moreover, little is known concerning the effects on feeding behavior, and especially on the reward system which evolved not only to satisfy biologically essential activities like feeding, but also to modulate caloric ingestion.

Long-term epidemiological studies have demonstrated that the prolonged use of NNS in consumers causes some kind of metabolism impairment, proposing that these substances have an influence on energy regulation despite them supplying no calories. True to be said is that although a great number of studies show adverse effects on health, many others do not find any secondary effects after a long period of ingestion, hence it is becoming a priority to watch NNS regular consumers.

References

- 1 Quarrat-ul-Ain, Khan SA. Artificial sweeteners : safe or unsafe ? *J Pak Med Assoc* 2015; **65**: 225-227.
- 2 Fitch C, Keim KS. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Use of Nutritive and Nonnutritive Sweeteners. *J Acad Nutr Diet* 2012; **112**: 739-758.
- 3 Pepino MY. Metabolic effects of non-nutritive sweeteners. *Physiol Behav* 2015; **152**: 450-455.
- 4 Garcia-Almeida JM, Casado Fdez GM, Garcia Aleman J. [A current and global review of sweeteners. Regulatory aspects]. *Nutr Hosp* 2013; **28 Suppl 4**: 17-31.
- 5 Swithers SE. Artificial sweeteners produce the counterintuitive effect of inducing metabolic derangements. *Trends Endocrinol Metab* 2013; **24**: 431-441.



- 6 Yang Q. Gain weight by «going diet?» Artificial sweeteners and the neurobiology of sugar cravings: Neuroscience 2010. *Yale J Biol Med* 2010; **83**: 101-108.
- 7 Sylvetsky A, Rother K. Trends in the consumption of low-calorie sweeteners. *Physiol Behav* 2016; **1**: 1-17.
- 8 Muhlhausler BS, Gugusheff J. Prenatal Programming of the Mesolimbic Reward Pathway and Food Preferences. 2016, pp 169-188.
- 9 Rada P, Avena NM, Hoebel BG. “Adicción” Al Azúcar : ¿Mito o Realidad? Revisión. *Rev Venez Endocrinol Metab* 2005; **3**: 2-12.
- 10 Meyers B, Brewer MS. Sweet taste in man: A review. *J Food Sci* 2008; **73**. doi:10.1111/j.1750-3841.2008.00832.x.
- 11 Zhang Y, Hoon MA, Chandrashekar J *et al*. Coding of Sweet, Bitter, and Umami Tastes: Different Receptor Cells Sharing Similar Signaling Pathways. *Cell* 2003; **112**: 293-301.
- 12 Simon SA, de Araujo IE, Gutierrez R, Nicolelis MAL. The neural mechanisms of gustation: a distributed processing code. *Nat Rev Neurosci* 2006; **7**: 890-901.
- 13 Yarmolinsky DA, Zuker CS, Ryba NJP. Common Sense about Taste: From Mammals to Insects. *Cell* 2009; **139**: 234-244.
- 14 Medler KF. Calcium signaling in taste cells. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res* 2015; **1853**: 2025-2032.
- 15 Nelson G, Hoon MA, Chandrashekar J, Zhang Y, Ryba NJP, Zuker CS. Mammalian Sweet Taste Receptors. *Cell* 2001; **106**: 381-390.
- 16 Temussi P. The Sweet Taste Receptor: A Single Receptor with Multiple Sites and Modes of Interaction. *Adv Food Nutr Res* 2007; **53**: 199-239.
- 17 Chéron J-B, Golebiowski J, Antonczak S, Fiorucci S. The anatomy of mammalian sweet taste receptors. *Proteins Struct Funct Bioinforma* 2017; **85**: 332-341.
- 18 DeSimone JA, Ren Z, Phan T-HT, Heck GL, Mummalaneni S, Lyall V. Changes in taste receptor cell [Ca²⁺] i modulate chorda tympani responses to salty and sour taste stimuli. *J Neurophysiol* 2012; **108**: 3206-3220.
- 19 Margolskee RF. Molecular mechanisms of bitter and sweet taste transduction. *J. Biol. Chem.* 2002; **277**: 1-4.
- 20 Finger TE. ATP Signaling Is Crucial for Communication from Taste Buds to Gustatory Nerves. *Science (80-)* 2005; **310**: 1495-1499.
- 21 Mizoguchi N, Kobayashi M, Muramoto K. Integration of olfactory and gustatory chemosignals in the insular cortex. *J Oral Biosci* 2016; **58**: 81-84.
- 22 Norgren R. Taste pathways to hypothalamus and amygdala. *J Comp Neurol* 1976; **166**: 17-30.



- 23 Hajnal A, Norgren R. Taste pathways that mediate accumbens dopamine release by sapid sucrose. *Physiol Behav* 2005; **84**: 363-369.
- 24 Small DM, Scott TR. Symposium overview: What happens to the pontine processing repercussions of interspecies differences in pontine taste representation for tasting and feeding. *Ann N Y Acad Sci* 2009; **1170**: 343-346.
- 25 Rolls ET. Taste, olfactory, and food reward value processing in the brain. *Prog Neurobiol* 2015; **127-128**: 64-90.
- 26 Gardner EL. Addiction and Brain Reward and Antireward Pathways. En: *Chronic Pain and Addiction*. KARGER: Basel, 2011, pp 22-60.
- 27 Adinoff B. Neurobiologic Processes in Drug Reward and Addiction. *Harv Rev Psychiatry* 2004; **12**: 305-320.
- 28 Ahmed SH, Guillem K, Vandaele Y. Sugar addiction: pushing the drug-sugar analogy to the limit. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2013; **16**: 434-439.
- 29 Rada P, Avena NM, Hoebel BG. Daily bingeing on sugar repeatedly releases dopamine in the accumbens shell. *Neuroscience* 2005; **134**: 737-744.
- 30 Colantuoni C, Schwenker J, McCarthy J *et al*. Excessive sugar intake alters binding to dopamine and mu-opioid receptors in the brain. *Neuroreport* 2001; **12**: 3549-3552.
- 31 Colantuoni C, Rada P, McCarthy J *et al*. Evidence That Intermittent, Excessive Sugar Intake Causes Endogenous Opioid Dependence. *Obes Res* 2002; **10**: 478-488.
- 32 Berridge KC. «Liking» and «wanting» food rewards: Brain substrates and roles in eating disorders. *Physiol Behav* 2009; **97**: 537-550.
- 33 Small DM, Zatorre RJ, Dagher A, Evans AC, Jones-Gotman M. Changes in brain activity related to eating chocolate: From pleasure to aversion. *Brain* 2001; **124**: 1720-1733.
- 34 Stice E, Burger KS, Yokum S. Relative ability of fat and sugar tastes to activate reward, gustatory, and somatosensory regions 1-3. *Am J Clin Nutr* 2013; **98**: 1377-1384.
- 35 Small DM, Jones-Gotman M, Dagher A. Feeding-induced dopamine release in dorsal striatum correlates with meal pleasantness ratings in healthy human volunteers. *Neuroimage* 2003; **19**: 1709-1715.
- 36 Pelchat ML, Johnson A, Chan R, Valdez J, Ragland JD. Images of desire: Food-craving activation during fMRI. *Neuroimage* 2004; **23**: 1486-1493.
- 37 Stice E, Spoor S, Bohon C, Veldhuizen MG, Small DM. Relation of reward from food intake and anticipated food intake to obesity: A functional magnetic resonance imaging study. *J Abnorm Psychol* 2008; **117**: 924-935.
- 38 Kessler RM, Zald DH, Ansari MS, Li R, Cowan RL. Changes in dopamine release and dopamine D2/3 receptor levels



- with the development of mild obesity. *Synapse* 2014; **68**: n/a-n/a.
- 39 de Weijer BA, van de Giessen E, van Amelsvoort TA *et al.* Lower striatal dopamine D2/3 receptor availability in obese compared with non-obese subjects. *EJNMMI Res* 2011; **1**: 37.
- 40 Karlsson HK, Tuominen L, Tuulari JJ *et al.* Obesity Is Associated with Decreased μ -Opioid But Unaltered Dopamine D2 Receptor Availability in the Brain. *J Neurosci* 2015; **35**: 3959-65.
- 41 Frank GKW, Oberndorfer TA, Simmons AN *et al.* Sucrose activates human taste pathways differently from artificial sweetener. *Neuroimage* 2008; **39**: 1559-69.
- 42 Chambers ES, Bridge MW, Jones DA. Carbohydrate sensing in the human mouth : effects on exercise performance and brain activity. 2009; **8**: 1779-1794.
- 43 Smeets PAM, Weijzen P, de Graaf C, Viergever MA. Consumption of caloric and non-caloric versions of a soft drink differentially affects brain activation during tasting. *Neuroimage* 2011; **54**: 1367-1374.
- 44 Green E, Murphy C. Altered processing of sweet taste in the brain of diet soda drinkers. *Physiol Behav* 2012; **107**: 560-567.
- 45 Rudenga KJ, Small DM. Amygdala response to sucrose consumption is inversely related to artificial sweetener use. *Appetite* 2012; **58**: 504-507.
- 46 Rudenga K, Green B, Nachtigal D, Small DM. Evidence for an integrated oral sensory module in the human anterior ventral insula. *Chem Senses* 2010; **35**: 693-703.
- 47 Small DM, Veldhuizen MG, Felsted J, Mak YE, McGlone F. Separable Substrates for Anticipatory and Consummatory Food Chemosensation. *Neuron* 2008; **57**: 786-797.
- 48 Touzani K, Bodnar RJ, Sclafani A. Dopamine D1-like receptor antagonism in amygdala impairs the acquisition of glucose-conditioned flavor preference in rats. *Eur J Neurosci* 2009; **30**: 289-298.
- 49 Griffioen-Roose S, Smeets PAM, Weijzen PLG, Van Rijn I, Van Den Bosch I, De Graaf C. Effect of replacing sugar with non-caloric sweeteners in beverages on the reward value after repeated exposure. *PLoS One* 2013; **8**: 1-12.
- 50 Caprioli D, Zeric T, Thorndike EB, Venniro M. Persistent palatable food preference in rats with a history of limited and extended access to methamphetamine self-administration. *Addict Biol* 2015; **20**: 913-926.
- 51 Huynh C, Fam J, Ahmed SH, Clemens KJ. Rats quit nicotine for a sweet reward following an extensive history of nicotine use. *Addict Biol* 2017; **22**: 142-151.
- 52 Lenoir M, Serre F, Cantin L, Ahmed SH. Intense sweetness surpasses cocaine reward. *PLoS One* 2007; **2**. doi:10.1371/journal.pone.0000698.



- 53 Lenoir M, Cantin L, Vanhille N, Serre F, Ahmed SH. Extended heroin access increases heroin choices over a potent nondrug alternative. *Neuropsychopharmacology* 2013; **38**: 1209-1220.
- 54 Vanhille N, Belin-Rauscent A, Mar AC, Ducret E, Belin D. High Locomotor Reactivity to Novelty Is Associated with an Increased Propensity to Choose Saccharin Over Cocaine: New Insights into the Vulnerability to Addiction. *Neuropsychopharmacology* 2015; **40**: 577-589.
- 55 Madsen HB, Ahmed SH. Drug versus sweet reward: Greater attraction to and preference for sweet versus drug cues. *Addict Biol* 2015; **20**: 433-444.
- 56 Aoyama K, Barnes J, Grimm JW. Incubation of saccharin craving and within-session changes in responding for a cue previously associated with saccharin. *Appetite* 2014; **72**: 114-122.
- 57 Marinovich M, Galli CL, Bosetti C, Gallus S, La Vecchia C. Aspartame, low-calorie sweeteners and disease: Regulatory safety and epidemiological issues. *Food Chem Toxicol* 2013; **60**: 109-115.
- 58 Mishra A, Ahmed K, Froghi S, Dasgupta P. Systematic review of the relationship between artificial sweetener consumption and cancer in humans: analysis of 599,741 participants. *Int J Clin Pract* 2015; **69**: 1418-1426.
- 59 Weihrauch MR, Diehl V. Artificial sweeteners—do they bear a carcinogenic risk? *Ann Oncol* 2004; **15**: 1460-1465.
- 60 Gallus S, Scotti L, Negri E *et al*. Artificial sweeteners and cancer risk in a network of case-control studies. *Ann Oncol* 2006; **18**: 40-44.
- 61 Andreatta MM, Muñoz SE, Lantieri MJ, Eynard AR, Navarro A. Artificial sweetener consumption and urinary tract tumors in Cordoba, Argentina. *Prev Med (Baltim)* 2008; **47**: 136-139.
- 62 Schernhammer ES, Bertrand KA, Birmann BM, Sampson L, Willett WC, Feskanich D. Consumption of artificial sweetener— and sugar-containing soda and risk of lymphoma and leukemia in men and women. *Am J Clin Nutr* 2012; **96**: 1419-1428.
- 63 Brown RJ, de Banate MA, Rother KI. Artificial Sweeteners: A systematic review of metabolic effects in youth. *Int J Pediatr Obes* 2010; **5**: 305-312.
- 64 Fagherazzi G, Gusto G, Affret A *et al*. Chronic Consumption of Artificial Sweetener in Packets or Tablets and Type 2 Diabetes Risk: Evidence from the E3N-European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Study. *Ann Nutr Metab* 2017; **70**: 51-58.
- 65 Inte Arct Consortium T. Consumption of sweet beverages and type 2 diabetes incidence in European adults: results from EPIC-InterAct. *Diabetologia* 2013; **56**: 1520-1530.
- 66 Nettleton J, Lutsey P, Wang Y, Lima J, Michos E, Jacobs D. Diet Soda Intake and Risk of Incident Metabolic



- Syndrome and Type 2 Diabetes in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Diabetes Care* 2009; **32**: 688-694.
- 67 Huang M, Quddus A, Stinson L *et al*. Artificially sweetened beverages, sugar-sweetened beverages, plain water, and incident diabetes mellitus in postmenopausal women: the prospective Women’s Health Initiative observational study. *Am J Clin Nutr* 2017; **106**: 614-622.
- 68 Fagherazzi G, Vilier A, Saes Sartorelli D, Lajous M, Balkau B, Clavel-Chapelon F. Consumption of artificially and sugar-sweetened beverages and incident type 2 diabetes in the Etude Epidémiologique auprès des femmes de la Mutuelle Générale de l’Education Nationale–European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. *Am J Clin Nutr* 2013; **97**: 517-523.
- 69 Sylvetsky AC, Brown RJ, Blau JE, Walter M, Rother KI. Hormonal responses to non-nutritive sweeteners in water and diet soda. *Nutr Metab (Lond)* 2016; **13**: 71.
- 70 Yarmolinsky J, Duncan BB, Chambless LE *et al*. Artificially Sweetened Beverage Consumption Is Positively Associated with Newly Diagnosed Diabetes in Normal-Weight but Not in Overweight or Obese Brazilian Adults. *J Nutr* 2016; **146**: 290-297.
- 71 de Koning L, Malik VSV, Rimm EB *et al*. Sugar-sweetened and artificially sweetened beverage consumption and risk of type 2 diabetes in men. *Am J Clin Nutr* 2011; **93**: 1321-1327.
- 72 Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF *et al*. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation* 2007; **116**: 480-488.
- 73 Lutsey PL, Steffen LM, Stevens J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: The atherosclerosis risk in communities study. *Circulation* 2008; **117**: 754-761.
- 74 Duffey KJ, Steffen LM, Van Horn L, Jacobs DR, Popkin BM. Dietary patterns matter: Diet beverages and cardiometabolic risks in the longitudinal Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Am J Clin Nutr* 2012; **95**: 909-915.
- 75 Hall LN, Sanchez LR, Hubbard J *et al*. Aspartame intake relates to coronary plaque burden and inflammatory indices in human immunodeficiency virus. *Open Forum Infect Dis* 2017; **4**: 1-9.
- 76 Pase MP, Himali JJ, Beiser AS *et al*. Sugar- and Artificially Sweetened Beverages and the Risks of Incident Stroke and Dementia: A Prospective Cohort Study. *Stroke* 2017; **48**: 1139-1146.
- 77 Gardener H, Rundek T, Markert M, Wright CB, Elkind MS V, Sacco RL. Diet soft drink consumption is associated with an increased risk of vascular events in the Northern Manhattan study. *J Gen Intern Med* 2012; **27**: 1120-1126.



Figures and tables

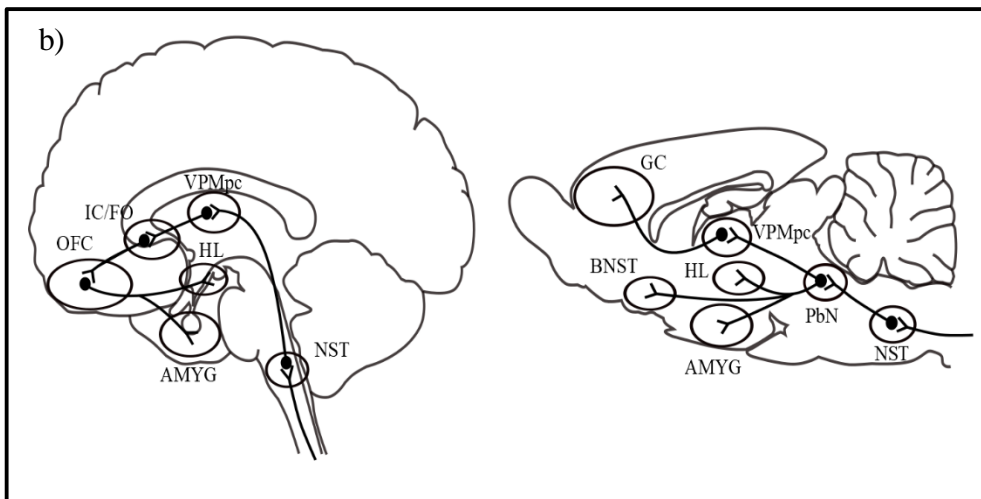
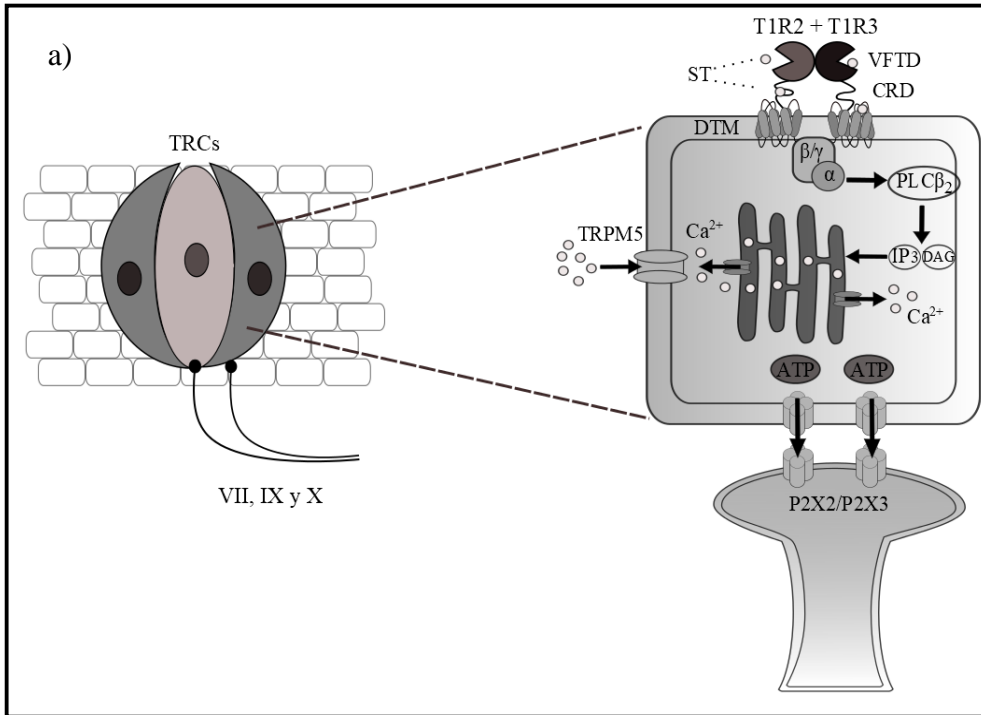


Figure 1. Schematic representation of the sweet taste pathway in brain. a) Taste buds are typically composed of 50-100 taste receptor cells (TRCs). When a sweet tastant (ST) links to the heterodimeric G-protein-coupled receptor T1R2+T1R3 in one of the multiple active sites, the transduction is initiated, G $\beta\gamma$ subunits from the G protein are released and activates PLC β_2 which hydrolyzes PIP $_2$ into IP $_3$ and DAG. Then IP $_3$ binds to IP $_3$ R $_3$ leading to the release of Ca $^{2+}$ from the endoplasmic reticulum and the activation of TRPM5 channels, permitting the entry of Na $^+$, membrane depolarization, and the activation of VGCCs, resulting in the release of ATP through pannexin and connexin hemichannels P2X2/P2X3 located at the terminals of the nerves VII, IX, and X. **b)** Taste information recovered from the cranial nerves is taken to the sensory ganglia (petrosal, geniculate, and nodose, respectively), and later to the rostral part of the NTS where gustatory pathway between rodents and primates is differentiated. In rodents, afferent fibers from NTS are projected to the PbN, from this point the gustatory pathway bifurcates into two pathways: a dorsal “sensory” pathway which ends at granular and dysgranular cortices, and a ventral “affective” pathway which projects mainly to the amygdala (AMYG), LH, and NSTD; in primates (including humans) projections from the NTS project directly to the VPMpc, subsequently to the primary gustatory cortex (IC/OF) and to OFC. Finally, these projections return to the basal ganglia, mainly ventral striatum and part of the head of the caudate nucleus.

Table 1. Relationship between cancer development and the consumption of artificial sweeteners.

Author	Year	Sweetener	Study design	Type of cancer
Gallus <i>et al.</i> [60]	2006	Saccahrin	Retrospective	Larynx
				Breast
				Ovaries
Andreatta <i>et al.</i> [61]	2008	Saccharin	Retrospective	Urinary tract cancer
		Cyclamate		
		Acesulfame K		
		Aspartame		
Schernhammer <i>et al.</i> [62]	2012	Aspartame	Prospective	Non-Hodgkiniano lymphoma
				Multiple melanoma
				Leukemia



Studies carried out in the last decade showing a positive relationship between some types of cancer and the chronic consumption of artificial sweeteners (≤ 10 years). Andreatta reported a consumption of a blend of sweeteners [61].

Table 2. Epidemiological studies related to the consumption of artificial sweeteners.


Effect on health	Sweetener	Study design	Year	Reference
Type 2 diabetes	Not determined	Cohort	2017	Fagherazzi <i>et al.</i> [64]
	Not determined	Prospective cohort	2013	The Interact Cosortium [65]
	Not determined	Longitudinal cohort	2009	Nettleton <i>et al.</i> [66]
	Sucralose, Advantame, Saccharin	Retrospective	2013	Swithers [5]
	Not determined	Retrospective	2016	Pepino <i>et al.</i> [3]
	Not determined	Prospective cohort	2017	Huang <i>et al.</i> [67]
	Not determined	Prospective	2013	Fagherazzi <i>et al.</i> [68]
	Sucralose and Acesulfame K	Prospective randomized	2016	Sylvetsky <i>et al.</i> [69]
	Not determined	Cohort	2016	Yarmolinsky <i>et al.</i> [70]
	Not determined	Cohort	2011	de Koning <i>et al.</i> [71]
Metabolic syndrome	Not determined	Cohort	2009	Nettleton <i>et al.</i> [66]
	Not determined	Prospective	2007	Dhingra <i>et al.</i> [72]
	Not determined	Prospective	2008	Lutsey <i>et al.</i> [73]
Cardiovascular diseases	Not determined	Prospective cohort	2012	Duffey <i>et al.</i> [74]
	Aspartame	Cohort	2017	Hall <i>et al.</i> [75]
	Saccharin, Acesulfame K, Aspartame, Sucralose, Neotame, Stevia glycosides	Cohort	2017	Pase <i>et al.</i> [76]
	Not determined	Prospective	2007	Dhingra <i>et al.</i> [72]
	Not determined	Cohort	2012	Gardener <i>et al.</i> [77]







Studies carried out in the last decade that evaluate the long-term impact of artificial sweetener on health in different populations. Most of the studies evaluated the intake of dietary drinks making it difficult to determine the effect of each sweetener, nevertheless, the relationship between the development of metabolic diseases and NNS is high lightened.

2. CONSTANCIA DE ENVÍO

ScholarOne Manuscripts <https://mc.manuscriptcentral.com/obr>

 **Obesity Reviews**

-  Home
-  Author
-  Review

Submission Confirmation  Print

Thank you for your submission

Submitted to Obesity Reviews

Manuscript ID OBR-10-18-3617

Title Non-nutritive sweeteners, a sweet reward: neurobiological bases of sweet taste perception and dopaminergic system activity.

Authors López, Luis
Salaya-Velázquez, Nadi
Sánchez-Aparicio, Pedro
Recillas-Morales, Sergio
Domínguez-Guadarrama, Andrés
Venebra-Muñoz, Arturo

Date Submitted 08-Oct-2018

[Author Dashboard](#)

1 de 3 08/10/2018 08:41 n. m.



3. INCREMENTO DE PESO

Los animales que se usaron en el experimento iniciaron con un peso promedio de 77.82 ± 2.70 g, todos los grupos presentaron un incrementando gradual a lo largo de los 20 días de tratamiento hasta llegar a los 209 ± 4.03 g (**Figura 13A y B**), sin embargo el grupo ELS presentó un mayor peso con respecto del control ($F_{2, 20}=6.57$; $P<0.05$; Tabla 4), diferencia que desapareció al final del experimento de acuerdo con el análisis de varianza ($F_{2, 20}=3.4$; $P=0.0536$), probablemente debido al menor incremento porcentual que presentaron estos animales en comparación con el grupo control ($F_{2,20}=4.65$, $P<0.05$) (**Tabla 4**). En lo que respecta a los grupos expuestos al consumo de Acesulfame-K, las diferencias con el grupo control no resultaron significativas.

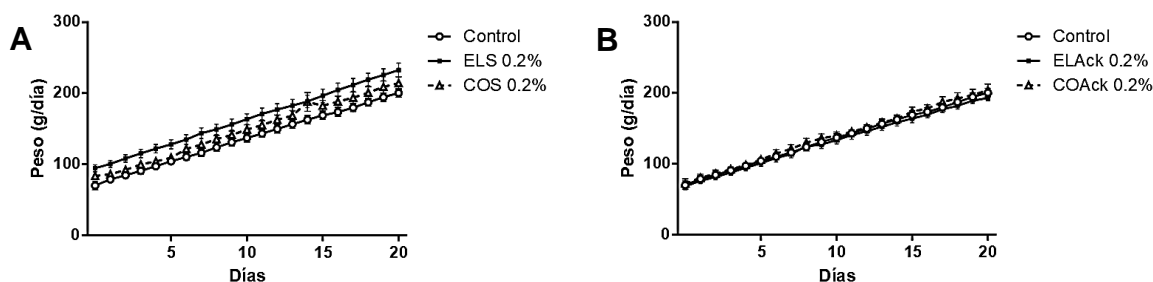


Figura 13. Peso corporal de los animales expuestos al consumo de extracto de Stevia (A) y Acesulfame-K (B) durante 20 días comparados con el grupo control. CON, control; ELS 0.2%, elección libre de extracto de Stevia; COS 0.2%, consumo obligado de extracto de Stevia; ELAck 0.2%, elección de Acesulfame-K; COAck 0.2%, consumo obligado de Acesulfame-K.

Tabla 4. Promedios del peso corporal inicial, final y ganancia porcentual en ratas macho control y ratas tratadas con extracto de Stevia y Acesulfame-K.

Grupos	Peso corporal (g)		Ganancia (%)
	Inicial	Final	
Control	69.87 ± 6.10	200.50 ± 6.17	196.10 ± 18.52
ELS 0.2%	$94.30 \pm 4.93^*$	232.50 ± 9.84	$147.60 \pm 3.27^*$
COS 0.2%	83.39 ± 2.89	214.10 ± 8.92	157.60 ± 10.04
ELAck 0.2%	68.11 ± 4.76	192.80 ± 3.96	192.7 ± 21.04
COAck 0.2%	72.44 ± 6.40	203.90 ± 8.78	191.60 ± 18.51



*Diferencias significativas respecto al grupo control mediante ANOVA ($P < 0.05$). CON, control; ELS 0.2%, elección libre de extracto de Stevia; COS 0.2%, consumo obligado de extracto de Stevia; ELAck 0.2%, elección de Acesulfame-K; COAck 0.2%, consumo obligado de Acesulfame-K.

4. INGESTA DE LÍQUIDOS Y ALIMENTO

Los datos registrados del consumo de total de líquidos reflejan la suma de ambos bebederos en todos los grupos, así el consumo de líquidos de los grupos de elección libre es igual al consumo de agua más el consumo de la solución del edulcorante correspondiente. El análisis de los datos reveló que aunque la ingesta total de líquidos escaló a los largo de los 20 días dentro de todos los grupos (Días $F_{19, 646} = 21.60$; $P < 0.05$; **Figura 14A y B**), el incremento no sucedió de manera constante (interacción Grupo \times Días $F_{76, 646} = 1.702$; $P = 0.0004$). Además, no se encontraron diferencias de consumo entre grupos (Grupos $F_{4, 34} = 1.274$; $P = 0.2992$).

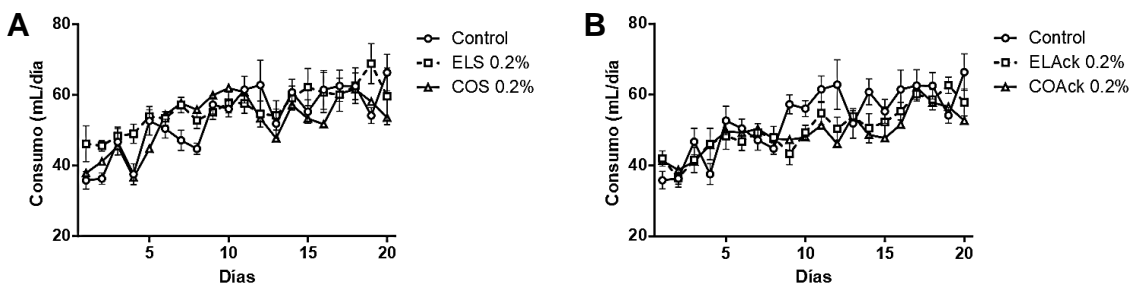


Figura 14. Consumo total de líquidos durante los 20 días de tratamiento. No se encontraron diferencias de consumo entre los grupos expuestos al consumo de extracto de Stevia (A) y los grupos expuestos al consumo de Acesulfame-K (B) con respecto del control. CON, control; ELS 0.2%, elección libre de extracto de Stevia; COS 0.2%, consumo obligado de extracto de Stevia; ELAck 0.2%, elección de Acesulfame-K; COAck 0.2%, consumo obligado de Acesulfame-K.

Un análisis más detallado dentro de los grupos de elección libre con una ANOVA de dos vías, con Bebederos y Días como factores, demostró que dentro del grupo ELS 0.2% existió una preferencia por el bebedero que contenía la solución de extracto de Stevia (Bebedero $F_{1, 14} = 77.89$; $P < 0.05$; **Figura 15A**) y la prueba *post hoc* LSD de Fisher ($P < 0.01$) confirmó esta preferencia por el edulcorante desde el segundo día del tratamiento. Dentro de este grupo, el consumo de la solución de extracto de Stevia incrementó a lo largo del tratamiento (Días $F_{19, 266} = 3.143$; $P < 0.05$) aunque también se encontró una interacción Bebedero \times Días ($F_{19, 266} = 9.778$; $P < 0.05$) lo cual significa que el este incremento no se presentó de manera constante. Por el contrario, en el grupo de elección libre con Acesulfame-K (AcK 2.0%) no se encontró preferencia por alguno de los dos bebederos (Bebedero $F_{1, 14} = 0.05904$; $P = 0.8115$; **Figura 15B**) y la prueba *post hoc* LSD de Fisher ($P < 0.01$) sólo reportó diferencias



en los días 2, 16, 19 y 20. En este grupo, el consumo de líquidos de ambos bebederos también incrementó de manera gradual a lo largo del tratamiento (Días F19, 266=5.378; $p<0.05$) y también se presentó una interacción Bebedero x Días (F19, 266=3.131; $P<0.05$).

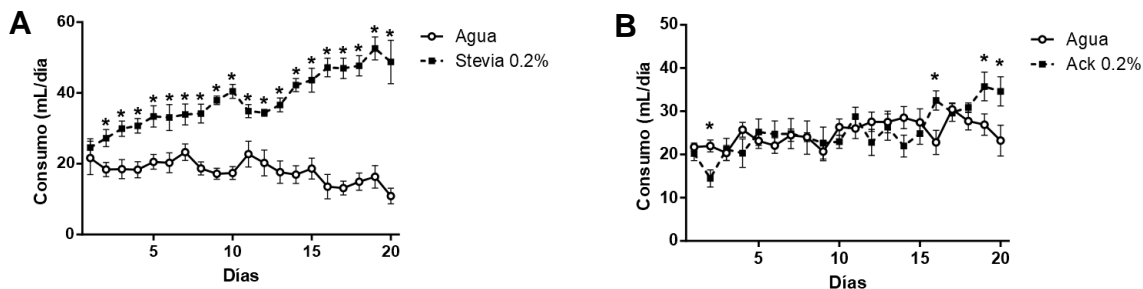


Figura 15. Consumo de líquidos dentro de los grupos de elección libre. El grupo ELS 0.2% presentó una preferencias por el bebedero que contenía la solución de extracto de Stevia desde el segundo día (A), mientras que el grupo ELAcK 0.2% sólo presentó diferencias los días 2, 16, 19 y 20 (B). CON, control; ELS O.2%, elección libre de extracto de Stevia; COS 0.2%, consumo obligado de extracto de Stevia; ELAcK 0.2%, elección de Acesulfame-K; COAcK 0.2%, consumo obligado de Acesulfame-K. * $P<0.05$.

Un análisis de correlación entre la ingesta de edulcorantes no calóricos y el consumo de alimento en los grupos de elección libre reveló una alta correlación positiva entre las dos variables, sin embargo esta relación fue mucho más significativa en el grupo ELS 0.2% ($r=0.9527$; $P<0.01$; **Figura 16A**) en comparación con la encontrada en el grupo ELAcK 0.2% ($r=0.7945$; $P<0.01$; **Figura 16B**).

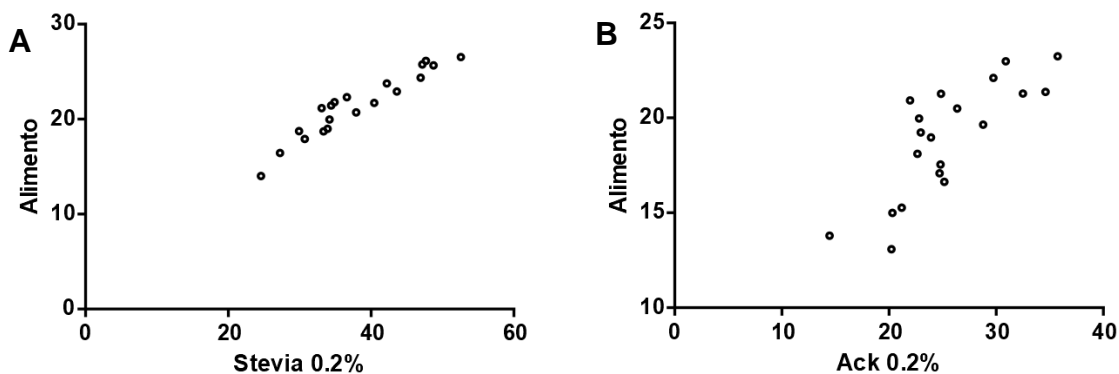


Figura 16. Correlación positiva entre la ingesta de edulcorantes no calóricos y el consumo de alimento en los grupos ELS 0.2% (A) Y ELAcK 0.2% (B).

La alta correlación encontrada entre el consumo de edulcorantes y la ingesta de alimento podría atribuirse al hecho de que el consumo de alimento tuvo incrementó durante todos



los días de tratamiento en todos los grupos (Días $F_{19, 646}=132.3$; $P<0.05$; **Figura 17A y B**), incremento que se mantuvo constante a través de los días (interacción Grupo \times Días $F_{76, 646}=1.250$; $P=0.0832$) pero sin diferencias de consumo entre los grupos que ingirieron edulcorante y el grupo control ($F_{4, 34}=1.943$; $P=0.1257$). Es interesante resaltar la menor dispersión de datos encontrada en la gráfica de correlación del grupo ELS 0.2%.

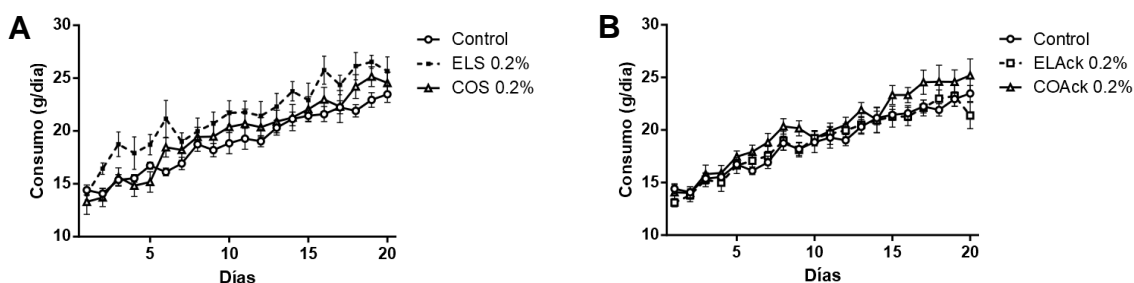


Figura 17. Consumo de alimento durante los 20 días de tratamiento. No se encontraron diferencias de consumo entre los grupos expuestos al consumo de extracto de *Stevia* (A) y los grupos expuestos al consumo de Acesulfame-K (B) con respecto del control. CON, control; ELS 0.2%, elección libre de extracto de *Stevia*; COS 0.2%, consumo obligado de extracto de *Stevia*; ELAck 0.2%, elección de Acesulfame-K; COAck 0.2%, consumo obligado de Acesulfame-K.

5. EXPRESIÓN DE Δ FosB Y CONTEO DE CÉLULAS INMUNORREACTIVAS

Como en los análisis anteriores, la comparación del número de células inmunorreactivas se hizo entre el control y los grupos expuestos al consumo de extracto de *Stevia* por un lado, y el por otro al grupo control con los grupos expuestos al consumo de Acesulfame-K para una mejor comprensión de los datos.

5.1 Núcleo Accumbens Core

La prueba ANOVA realizada a los datos del conteo del número de neuronas inmunorreactivas a Δ FosB en el NAC Core reveló diferencias significativa entre los grupos con consumo de extracto de *Stevia* y el grupo control ($F_{2, 189}=55.58$; $P<0.05$; **Figura 18A**), posteriormente el análisis *post hoc* de Tuckey ($P<0.01$) confirmó una mayor expresión en el grupo de ELS 0.2%. Por su parte, los grupos expuestos al consumo de Acesulfame-K también presentaron diferencias con respecto al grupo control ($F_{2, 100}=30.62$; $P<0.05$; **Figura 18B**), sólo que en este caso el análisis *post hoc* de Tuckey ($P<0.01$) reportó una menor expresión en los grupos ELAck 0.2% Y COAck 0.2%.



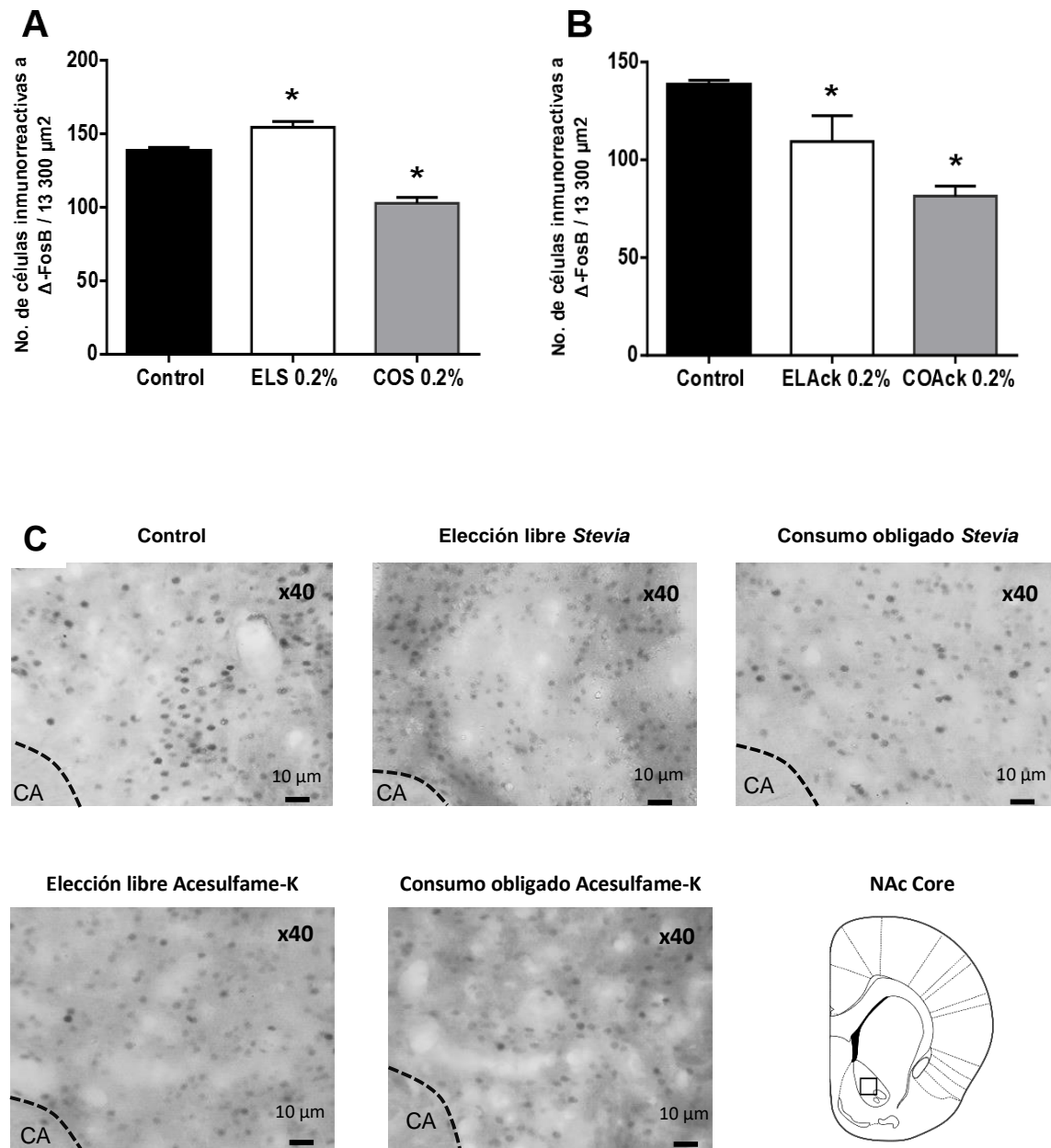


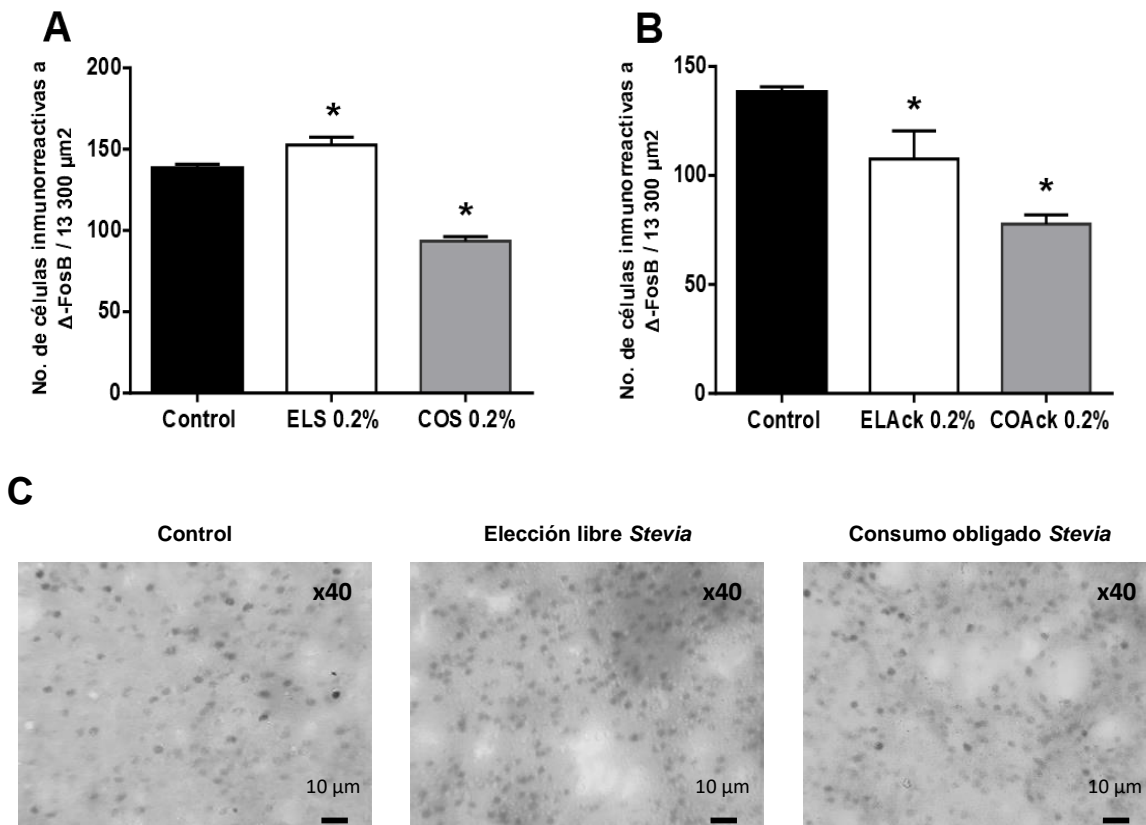
Figura 18. Cuantificación de células inmunorreactivas a Δ FosB en el NAc Core. El grupo ELS 0.2% presentó un mayor número de células marcadas comparado con el grupo control, mientras que el grupo COS 0.2% presentó un menor número con respecto al grupo control (A). Por su parte, ambos grupos expuestos al consumo de Acesulfame-K presentaron un



menor número de células inmunoreactivas a Δ FosB comparados con el grupo control (B). También se presentan micrografías representativas de células inmunoreactivas a Δ FosB en el NAc Core de todos los grupos con una magnificación de x40 al lado de un esquema que indica la región del conteo (C). CON, control; ELS 0.2%, elección libre de extracto de Stevia; COS 0.2%, consumo obligado de extracto de Stevia; ELAck 0.2%, elección de Acesulfame-K; COAck 0.2%, consumo obligado de Acesulfame-K. *P<0.05.

5.2 Núcleo Accumbens Shell

Comparando el número de células inmunorreactivas a Δ FosB en el NAc Shell de ratas expuestas al consumo de *Stevia* con el de ratas del grupo control mediante la prueba de ANOVA, se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($F_{2, 189}=74.37$; $P<0.05$; **Figura 19A**), posteriormente la prueba *post hoc* de Tuckey ($P<0.01$) confirmó un promedio más elevado en el grupo ELS 0.2%. Del lado de los grupos expuestos al consumo de Acesulfame-K también se encontraron diferencias con respecto al grupo control ($F_{2, 100}=34.84$; $P<0.05$; **Figura 19B**), y al igual que en el NAc Core, el análisis *post hoc* de Tuckey ($P<0.01$) reportó una menor expresión en los grupos ELAck 0.2% Y COAck 0.2%.



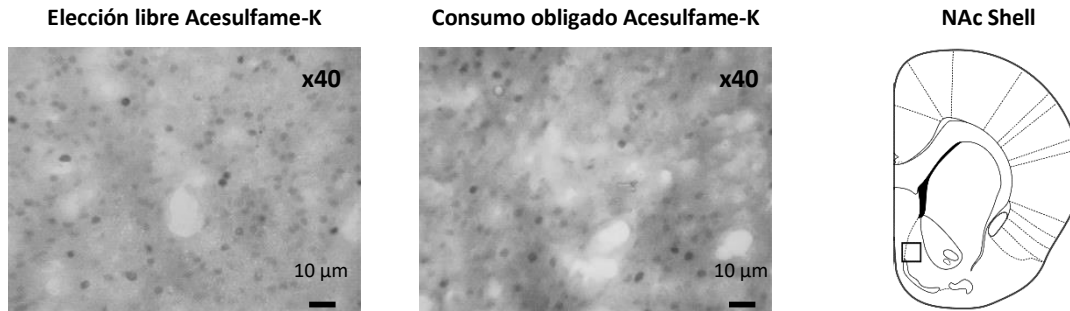
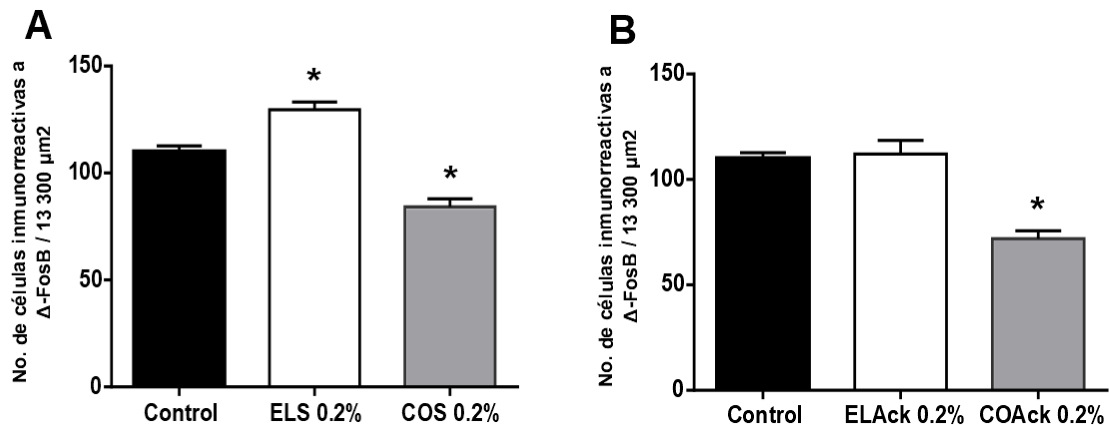


Figura 19. Cuantificación de células inmunoreactivas a Δ FosB en el NAc Shell. El grupo ELS 0.2% presentó un mayor número de células marcadas comparado con el grupo control, mientras que el grupo COS 0.2% presentó un menor número con respecto al grupo control (A). Por su parte, ambos grupos expuestos al consumo de Acesulfame-K presentaron un menor número de células inmunoreactivas a Δ FosB comparados con el grupo control (B). También se presentan micrografías representativas de células inmunoreactivas a Δ FosB en el NAc Shell de todos los grupos con una magnificación de x40 al lado de un esquema que indica la región del conteo (C). CON, control; ELS 0.2%, elección libre de extracto de Stevia; COS 0.2%, consumo obligado de extracto de Stevia; ELAck 0.2%, elección de Acesulfame-K; COAck 0.2%, consumo obligado de Acesulfame-K. * $P < 0.05$.

5.3 Estriado dorsal

Al igual que los dos análisis anteriores, las pruebas ANOVA revelaron diferencias significativas en los grupos que consumieron *Stevia* ($F_{2, 117} = 45.31$; $P < 0.05$; **Figura 17A**) y los grupos que consumieron Acesulfame-K ($F_{2, 55} = 21.09$; $P < 0.05$; **Figura 17B**). Las pruebas *post hoc* de Tuckey ($P < 0.01$) reportaron al grupo ELS 0.2% con un mayor número de células inmunorreactivas en el estriado, y a los grupos COS 0.2% y COAck 0.2% con una menor expresión en relación con el grupo control.



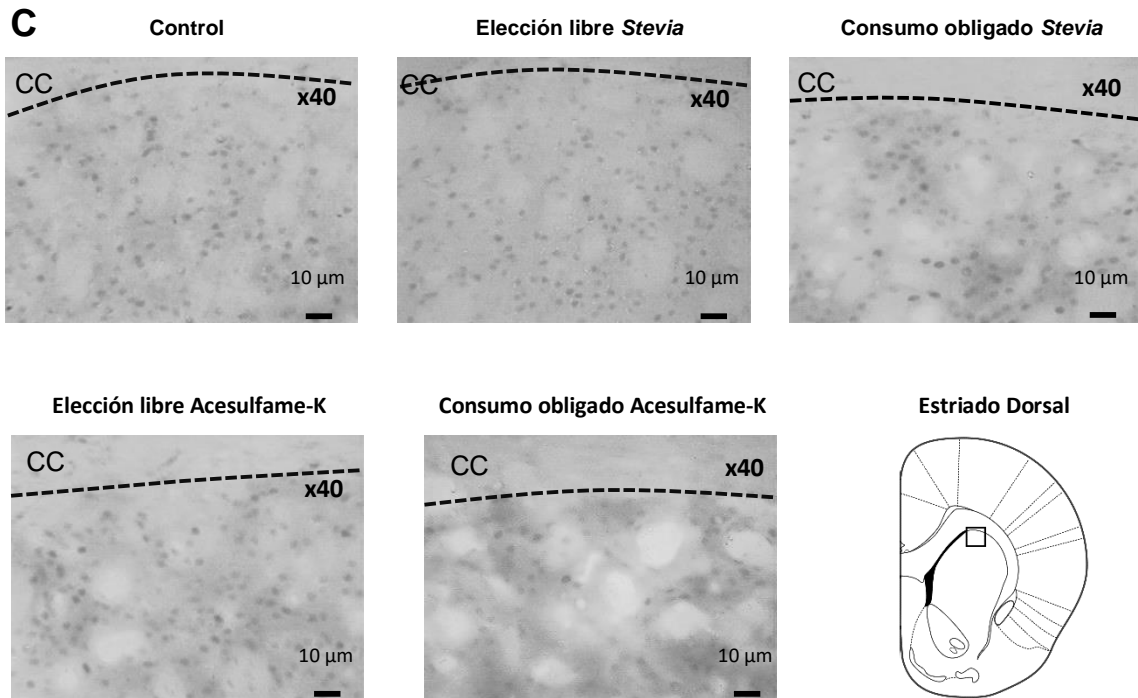


Figura 20. Cuantificación de células inmunoreactivas a Δ FosB en el Estriado Dorsal. El grupo ELS 0.2% presentó un mayor número de células marcadas comparado con el grupo control, mientras que el grupo COS 0.2% presentó un menor número con respecto al grupo control (A). Por su parte, entre los grupos expuestos al consumo de Acesulfame-K sólo el grupo COAcK 0.2% presentó un menor número de células inmunoreactivas a Δ FosB comparado con el grupo control (B). También se presentan micrografías representativas de células inmunoreactivas a Δ FosB en el Estriado Dorsal de todos los grupos con una magnificación de x40 al lado de un esquema que indica la región del conteo (C). CON, control; ELS 0.2%, elección libre de extracto de *Stevia*; COS 0.2%, consumo obligado de extracto de *Stevia*; ELA 0.2%, elección de Acesulfame-K; COAcK 0.2%, consumo obligado de Acesulfame-K. * $P < 0.05$.



DISCUSIÓN

1. INCREMENTO DE PESO Y CONSUMO DE ALIMENTO

Una de las principales razones por la que se volvieron tan populares los NNS en el mercado fue la aparente reducción en el consumo de calorías, pues a nte una asociación entre el consumo de alimentos endulzados con azúcar, principalmente en forma de bebidas, y el desarrollo de enfermedades crónicas como sobrepeso, obesidad, diabetes tipo 2 y síndrome metabólico los NNS aparecieron como una alternativa benéfica (Swithers, 2013). La controversia surgió, no obstante, a partir de datos reportados en estudios observacionales en humanos (Dhingra *et al.*, 2007; Fowler *et al.*, 2008; Lutsey *et al.*, 2008) y estudios en animales (Davidson y Swithers, 2004; Abou-Donia *et al.*, 2008; Swithers *et al.*, 2010; Feijó *et al.*, 2013) que muestran una asociación entre el consumo de estas sustancias y el aumento de peso, generalmente atribuido a un aumento en el consumo de alimento debido a una supuesta disociación entre el sabor dulce y el aporte calórico de los alimentos, promoviendo una compensación calórica (Davidson y Swithers, 2004).

De acuerdo con esta teoría, se esperaba que los animales expuestos al consumo de NNS presentaran un mayor peso así como una mayor ingesta de alimento en comparación con el grupo control. No obstante, en los resultados obtenidos no se observó que el consumo de alguno de los dos NNS consumidos en este experimento promoviera la ganancia de peso o el consumo de alimento para compensar la deficiencia calórica de los alimentos dulces; incluso, y de manera interesante, cuando se comparó la ganancia porcentual de peso entre los grupos al final del experimento se descubrió que el grupo de elección libre con extracto de *Stevia* presentaba una menor ganancia respecto al grupo control, además de que el grupo de consumo obligado presentó la segunda ganancia porcentual de peso más baja aunque sin llegar a tener una diferencia significativa en relación con el grupo control.

La reducción en la ganancia de peso ya ha sido reportada en otros trabajos en donde también se han utilizado animales expuestos al consumo de extracto de *Stevia* o algún glucósido de esteviol (Curry y Roberts, 2008; Nikiforov y Eapen, 2008; Awney *et al.*, 2011; Abo Elnaga *et al.*, 2016), al igual que en modelos diabéticos con roedores tratados con extracto de *Stevia* o algún glucósido de esteviol (Assaei *et al.*, 2016; AbdElwahab *et al.*, 2017; Philippaert *et al.*, 2017) y algunos otros con humanos (Anton *et al.*, 2010). Si bien es cierto que en muchos de estos trabajos también se menciona una reducción en el consumo de alimento, lo cual hasta cierto punto podría explicar la reducción en el incremento de peso corporal, también se debe tener en cuenta el efecto que los NNS provocan sobre el metabolismo de lípidos y carbohidratos. Al respecto, se ha reportado en estudios animales y en humanos que los glucósidos de esteviol contienen propiedades anti-hiperglucémicas (Gregersen *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 2006; Abo Elnaga *et al.*, 2016; Assaei *et al.*, 2016; Aghajanyan *et al.*, 2017), pues los glucósidos de esteviol y el aglicón esteviol aumentan la producción de insulina en células pancreáticas β (Jeppesen *et al.*, 2000; Abudula *et al.*, 2008; Nordentoft *et al.*, 2008; Philippaert *et al.*, 2017), además de que también contienen propiedades insulino-miméticas (Rizzo *et al.*, 2013; Prata *et al.*, 2017), provocando el



aumento en el consumo de glucosa en tejidos periféricos y músculos (Bhasker *et al.*, 2015). Asimismo, se han reportado propiedades anti-hiperlipidémicas de los glucósidos de esteviol (Awney *et al.*, 2011; Ahmad *et al.*, 2018), debido a que, entre otras cosas, el esteviosido reduce el colesterol al mismo tiempo que incrementa la excreción de ácidos biliares mediante la restricción de la reabsorción en el intestino delgado a través de la disrupción de la formación micelar de los ácidos biliares, lo cual provocaría la activación de la colesterol hidroxilasa-7 α que aumenta la conversión del colesterol hepático a ácidos biliares (Curry y Roberts, 2008).

En cuanto a que los grupos expuestos al consumo de Ace-K tampoco presentaron una diferencia en el peso, la ganancia de peso y el consumo de alimento respecto al grupo control crean una contradicción con los resultados de otros trabajos, por ejemplo, Bian y colaboradores (2017) encontraron que el consumo de Ace-k provocaba un incremento en el peso de corporal de ratones, sobre todo en machos, debido a un efecto negativo sobre la composición bacteriana intestinal y la activación de las vías de captación de energía bacteriana (Bian *et al.*, 2017), ahora bien, se debe tener en cuenta que en principio el modelo fue diferente, en donde Bian y colaboradores utilizaron ratones CD-1 y nosotros utilizamos ratas de la cepa Wistar, y en segunda, las dosis utilizadas en ambos experimentos fueron distintas pues utilizaron una dosis relativamente baja y encontraron efectos negativos sobre la composición bacteriana intestinal que finalmente se reflejó en el peso corporal de los ratones, en cambio en nuestro experimento las dosis ingeridas por los animales fueron significativamente más altas y no se observó ningún efecto adverso sobre el peso o la conducta alimenticia. Por su parte, otro estudio demostró que ratas Sprague-Dawley con acceso a yogurt endulzado con Ace-K al 0.3% por 7 de 14 días exhibieron un incremento en el consumo de alimento, mayor peso corporal y adiposidad en comparación con otro grupo de ratas que consumió yogurt endulzado con glucosa (Swithers *et al.*, 2009), sin embargo es evidente la diferencia en la forma de ingerir el NNS entre el trabajo de Swithers y colaboradores y el nuestro, pues mientras en el primero lo consumieron en forma semisólida, en el nuestro lo ingirieron en forma líquida.

Ahora bien, a pesar de los resultados contradictorios, los efectos del Ace-K siguen siendo poco conocido tanto por los consumidores como por los técnicos en alimentos y nutriólogos. Al respecto se han realizado estudios para conocer el impacto del consumo de este NNS sobre la expresión de hormonas metabólicas, situación que podría contribuir al aumento en el consumo de alimento y de peso corporal. Zheng *et al.* (2013), examinó el rol del Ace-K sobre la captación de glucosa en enterocitos mediante la preincubación de células Caco-2, RIE-1 e IEC-6 privadas de glucosa por 1 hora y a las cuales posteriormente se les midió la captación de glucosa. Encontraron que el Ace-K incrementaba la captación de glucosa entre 20 y 30% con concentraciones de glucosa menores a 25 nM mediante un mecanismo dependiente de GLUT2 en los primeros 5 minutos de la incubación. En otro experimento realizado con ratones C57BL/6J, en donde consumieron una solución 12.5 mM de Ace-K por 40 semanas, encontraron niveles elevados de leptina circulante, elevación de colesterol y lipohormonas de alta (HDL) y baja (LDL) densidad (Cong *et al.*, 2013). Aunque los modelos con roedores revelan algunos datos en cuanto a los efectos del consumo de los NNS, los resultados son inconsistentes en humanos, por ejemplo, en un estudio realizado en humanos en donde midieron la secreción gastrointestinal de péptidos anorexigénicos (GLP-1, PYY) no se encontró que el consumo de Ace-K u otros NNS estimularan la



secreción de estos péptidos y por lo tanto tuvieron efecto sobre el apetito (Steinert *et al.*, 2011). En resumen faltan estudios que evalúen los efectos del consumo de Ace-K sobre la conducta alimenticia y los procesos metabólicos y poder determinar su inocuidad.

2. CONSUMO DE EDULCORANTES

La elección de la concentración de las soluciones de ambos NNS se realizó tomando como referencia otros estudios (Swithers *et al.*, 2009; Sclafani *et al.*, 2010). La concentración de solución de extracto de stevia que decidimos utilizar en este trabajo fue de 0.2% y pudimos observar una preferencia por el edulcorante en el grupo de elección libre con dos bebederos a partir del segundo día, resultados que apoyan aquellos reportados por Sclafani y colaboradores en un modelo con hembras Sprague-Dawley adultas en donde encontraron que la preferencia por las concentraciones de extracto de stevia sobre el agua se encontraban entre 0.1% y 0.3%. No obstante, también se comprobó que el extracto de stevia no promovía el consumo excesivo de líquidos pues cuando se comparó el consumo total de líquido se observó que los grupos expuestos al consumo de extracto de stevia no superaban el consumo del grupo control, el cual sólo consumió agua, estos resultados coinciden de igual manera con los reportados por Sclafani y colaboradores. Por el contrario, en otro estudio (Figlewicz *et al.*, 2009) reportaron un consumo excesivo, en comparación con el agua, en ratas expuestas al consumo de una solución acuosa de otro producto de stevia (Stevia Now) con concentraciones demasiado elevadas (12.5% y 15%), el cual se revelaría posteriormente que no era un producto de extracto de stevia enteramente puro pues estaba mezclado con maltodextrin de arroz (Figlewicz *et al.*, 2010) que tiene un sabor atractivo para las ratas y efectos postprandiales que estimulan el consumo (Sclafani y Nissenbaum, 1988).

Por otro lado, de acuerdo con los datos de consumo arrojados por el grupo de elección libre no se observó una preferencia de Ace-K. Al respecto cabe mencionar que existen pocos trabajos acerca de la preferencia de Ace-K sobre el agua, por ejemplo, en su trabajo, Sclafani y colaboradores (2010) mencionan que en su laboratorio encontraron que las concentraciones de Ace-K al 0.1% y sacarina al 0.1% eran igualmente preferidas por ratas hembra y consumidas en mayor cantidad respecto al agua, no obstante son datos no publicados. Sumado a esto, Hughes y colaboradores (1987) publican un trabajo en donde al explorar el papel de las β -endorfinas sobre la conducta sexual en ratas macho de la cepa Lister Hooded utilizan una solución de Ace-K al 0.2%, de la cual mencionan que “las ratas la prefieren sobre la sacarina en la misma concentración” (Hughes *et al.*, 1987). Finalmente, en un estudio con ratones de las cepas B6 y 129, en donde comparan las respuestas de los ratones sobre diversos edulcorantes, encontraron que entre las concentraciones preferidas de Ace-K por ambas cepas se encontraba la de 0.2% (Bachmanov, 2001).

El hecho de que la solución de Ace-K al 0.2% no mostrara una preferencia en su consumo probablemente se explica porque este NNS provoca un resabor amargo al ser consumido (Allen *et al.*, 2013) pues al igual que la sacarina también activa los receptores del sabor amargo T2R43 y T2R44 (Kuhn, 2004), de ahí que frecuentemente se encuentre combinado con otros edulcorantes como aspartame, ciclamato y sacarina (Lawrence, 2003;



Yalamanchi *et al.*, 2016). Probablemente se habrían obtenido resultados distintos si se hubiera hecho una exploración previa con distintas concentraciones para poder determinar la más aceptable. Aun así, tampoco se puede determinar que existió aversión pues el consumo de agua y Ace-K en el grupo de elección libre fue prácticamente el mismo durante los 20 días a excepción de los últimos en donde se observó un mayor consumo del edulcorante. Aunado a esto, las ratas que sólo contaron con la solución de Ace-K como fuente de líquidos tampoco presentaron una menor ingesta comparada con la ingesta de agua del grupo control, lo cual apoya el punto de la inexistencia de aversión.

3. EXPRESIÓN DE Δ FosB Y CONTEO DE CÉLULAS INMUNORREACTIVAS

La adolescencia es un periodo clave del desarrollo y presenta grandes cambios cognitivos y neurobiológicos caracterizados por un incremento en conductas específicas tales como la impulsividad, búsqueda de la novedad o la toma de riesgos (Spear, 2000), conductas que están dirigidas hacia la búsqueda de la recompensa. Sumando a esto, la evidencia apunta a que es en esta etapa en donde existe una alta vulnerabilidad para dar inicio al abuso de sustancias pues los adolescentes son más sensibles a las recompensas inducidas por las drogas y las recompensas naturales, tales como los alimentos palatables (Chambers *et al.*, 2003; Crews *et al.*, 2007). De hecho, en ratas adolescentes se ha observado una mayor voluntad para ejecutar acciones que requieren esfuerzo para conseguir recompensas de alimentos palatables en relación con adultos y también un elevado consumo de estos alimentos (Friemel, 2010), además de un aumento en las reacciones hedónicas provocadas por el estímulo del sabor de alimentos dulces (Wilmouth y Spear, 2009) y es que, como ya se ha mencionado anteriormente, alimentos palatables como el azúcar activan la vía mesolímbica de recompensa de manera similar al alcohol, la nicotina y otras drogas recreativas (Muhlhausler y Gugasheff, 2016), llegando incluso desarrollar síntomas de dependencia bajo ciertas condiciones (Avena *et al.*, 2005).

La repetida estimulación del sistema de recompensa, ya sea por estímulos naturales (Werme *et al.*, 2002; Olausson, 2006; Wallace *et al.*, 2008; Pitchers *et al.*, 2010) o drogas (Perrotti *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2010; Lobo *et al.*, 2013), causan adaptaciones neuronales en el sistema mesolímbico dopaminérgico, tales como el incremento de una proteína miembro de la familia Fos denominada factor de transcripción Δ FosB, cuya acumulación gradual hace que se convierte en la proteína Fos dominante en el NAc y estriado dorsal y, debido a su estabilidad, persiste en estas regiones durante semanas o meses (Nestler, 2004). Ahora, considerando la influencia que los alimentos dulces tienen sobre las vías dopaminérgicas del cerebro, existen trabajos que han demostrado que el consumo crónico de azúcar induce la expresión de Δ FosB en el NAc y el estriado (Olausson, 2006; Wallace *et al.*, 2008; Lobo *et al.*, 2013); no obstante, es importante recordar que el azúcar contiene propiedades tanto hedónicas (oro-sensoriales) como calóricas, es por eso que nos propusimos evaluar la actividad neuronal mediante la detección del factor de transcripción Δ FosB de ciertos núcleos del sistema mesolímbico dopaminérgico de ratas macho adolescentes tras estar expuestos a un consumo crónico de dos distintos NNS investigando si el componente oro-sensorial del sabor dulce es suficiente para inducir cambios neuronales.



Los datos que encontramos muestran que solamente stevia promovió la sobre expresión de Δ FosB tanto en NAc Core y Shell como en estriado dorsal, aunque solamente bajo ciertas condiciones. Las diferencias entre tratamientos indican que la expresión está relacionada con las propiedades hedónicas del alimento y no por las características físicas de los alimentos *per se*, puesto que la inducción de Δ FosB sucedió cuando se consumió una concentración preferida y no cuando se obligó al consumo del NNS, es decir, que el número de células inmunorreactivas fue elevado en las tres áreas solamente cuando los animales tuvieron la opción de elegir. Este patrón en la expresión de Δ FosB dentro del sistema mesolímbico dopaminérgico es similar a lo reportado en otros estudios en donde los animales tuvieron la opción de elegir entre un bebedero que contenía agua y otro con solución de sacarosa al 10% (Wallace *et al.*, 2008; Lobo *et al.*, 2013); al igual que cuando, los animales consumen de manera voluntaria cocaína (Perrotti *et al.*, 2008), alcohol (Li *et al.*, 2010), opioides (Lobo *et al.*, 2013) o nicotina (Venebra-Muñoz *et al.*, 2014).

Funcionalmente, el NAc es una estructura clave en la mediación de procesos motivacionales y emocionales, un sistema de comunicación límbico-motor y un punto clave en el control de impulsos biológicos necesarios para la supervivencia y la reproducción (Salgado y Kaplitt, 2015). No obstante, se ha sugerido una división en el procesamiento neural de la recompensa entre las subdivisiones anatómicas Core y el Shell; por un lado, al NAc Shell se le han asignado funciones de valencia motivacional (apetitiva o aversiva) y novedad, en tanto que en el NAc Core se relaciona con un rol en la expresión motivacional (Bassareo *et al.*, 2002; Di Chiara, 2002). Por otro lado, modelos de reforzamiento con alimentos, como el condicionamiento pavloviano e instrumental, han relacionado la actividad dopaminérgica del NAc Shell con la formación de asociaciones positivas entre señales predictivas y el valor afectivo del resultado de una acción, mientras que al NAc Core se le ha relacionado con la selección de acciones óptimas ante un estímulo, es decir que participa en la selección de respuestas adaptativas (Corbit *et al.*, 2001; Bassareo, Cucca, Frau, *et al.*, 2015; Bassareo, Cucca, Musio, *et al.*, 2015), además de que también se ha propuesto al NAc Core como un punto crítico para la adquisición de aprendizaje instrumental dirigido (Baldwin *et al.*, 2002; Kelley, 2004). En cuanto al estriado dorsal también se le ha implicado en la selección de respuestas dirigidas condicionadas y, particularmente, se le ha involucrado en la formación de hábito (Yin *et al.*, 2005, 2008, 2009). Estas diferencias funcionales estructurales podrían explicar la mayor actividad neuronal en condiciones de elección libre respecto a los demás grupos; por otro lado, para explicar la poca actividad neuronal en los grupos con acceso constante a los edulcorantes se debe recordar que los alimentos inducen una habituación en las neuronas estriatales, provocando que la liberación de dopamina se desvanezca y desaparezca con el acceso repetido (Bassareo *et al.*, 2002). Ahora bien, tras estas observaciones se descubrió que, al menos en la rata, una leve privación de alimento era suficiente para abolir la habituación inducida por alimentos palatables (Bassareo y Di Chiara, 1999), y se empezaron a desarrollar modelos que elevaban los niveles extracelulares de dopamina cerca del 123% con respecto a los niveles basales (Rada *et al.*, 2005), además de otros cambios típicos de un fenotipo adictivo como aumento en la unión al receptor de dopamina D_1 y una disminución en los D_2 en varias partes del estriado (Colantuoni *et al.*, 2001). Y aunque no se conoce a ciencia cierta qué neurotransmisor regula la expresión de Δ FosB dentro del NAc, se ha propuesto a la dopamina como un candidato (Nye *et al.*, 1995), esta teoría es apoyada por el hecho de que se encontró una asociación entre una concentración



extracelular de dopamina y una elevada inmunorreactividad a proteínas Fos en NAc y estriado dorsal de ratones heterocigotos del gen GDNF (Airavaara *et al.*, 2004), por lo tanto se podría deducir que los animales que presentaron una mayor concentración de la proteína Δ FosB en NAc y estriado dorsal también podrían presentar una mayor actividad dopaminérgica en estas áreas cerebrales.

Se ha sugerido que el factor de transcripción Δ FosB es necesario para mediar la sensibilidad a drogas e incrementar la compulsión por la conducta de recompensa (Nestler, 2008), aumentar el consumo de la sustancia (Wallace *et al.*, 2008) y disminuir la sensibilidad a la aversión (Muschamp *et al.*, 2012). Usando metodología genética, ratones bitransgénicos que sobre expresan Δ FosB en el NAc incrementaron su sensibilidad a cocaína y morfina de acuerdo con la prueba de preferencia de lugar (Kelz *et al.*, 1999; Zachariou *et al.*, 2006); igualmente, se encontró que ratones que sobre expresan esta proteína ejercen un mayor esfuerzo para auto administrarse cocaína, y a mayores dosis en comparación con el grupo control, lo cual sugiere un aumento en la motivación por obtener la recompensa derivado de la sobre expresión de Δ FosB (Colby *et al.*, 2003). De manera similar a las drogas, la sobre expresión de Δ FosB en ratones altera la sensibilidad a dietas altamente gratificantes (Teegarden *et al.*, 2008) e incrementa la motivación para obtener alimentos (Olausson, 2006; Vialou *et al.*, 2011). Si bien no se conocen con precisión los mecanismos moleculares por los cuales los cambios dentro del NAc influyen sobre la conducta motivada, se sabe que tras su inducción, Δ FosB heterodimeriza con proteínas de la familia Jun para formar el complejo de proteína activadora 1 (AP-1), el cual se une a secuencias promotoras causando la expresión o represión de genes envueltos en la neuroplasticidad (Ruffle, 2014) entre los cuales se encuentra la subunidad GluR2 del receptor del ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico de glutamato (Kelz *et al.*, 1999), la quinasa dependiente de ciclina 5 (Cdk5) (Bibb *et al.*, 2001; Kumar *et al.*, 2005) y dinorfina (Zachariou *et al.*, 2006). Asimismo, cabe mencionar que las MSN que contienen sustancia P, es decir, las MSNs D₁, parecen ser el principal sustrato de inducción de Δ FosB en las células estriatales (Nye *et al.*, 1995; Muller, 2005), y como se recordará, los dos subtipos de MSN, las D₁ y las D₂, están involucradas en distintos procesos conductuales relacionados con la recompensa, pues mientras la activación de las MSN D₁ en el NAc está relacionada con efectos positivos y favorecen el establecimiento de conductas como la preferencia de lugar condicionada, la excitación de neuronas D₂ promueven la aversión y suprime la recompensa inducida por cocaína (Lobo *et al.*, 2010; Kravitz *et al.*, 2012; Koo *et al.*, 2014). De manera similar a estas observaciones, la sobre expresión de Δ FosB en MSN D₁ en el NAc y estriado dorsal de ratones bitransgénicos provoca el incremento de respuestas locomotoras, aumento en la preferencia de lugar condicionada y promueve la autoadministración de algunas drogas (Kelz *et al.*, 1999; Colby *et al.*, 2003; Zachariou *et al.*, 2006), mientras que la sobre expresión de Δ FosB en MSN D₂ disminuye el ejercicio en rueda (Werme *et al.*, 2002). Respecto al presente trabajo, no se puede determinar qué perfil neuronal, ya fuera D₁ o D₂, es el que presentó una mayor expresión de Δ FosB; no obstante, algunos trabajos han reportado la inducción de Δ FosB en ambos subtipos de MSN en NAc y estriado dorsal tras la ingesta crónica de sacarosa (Lobo *et al.*, 2013).

Es probable que la inducción de Δ FosB en los individuos que presentaron una sobre expresión fuera causada por la liberación de opioides, tales como encefalinas o β -endorfinas, provocada por la repetida exposición a sustancias dulces (Yamamoto *et al.*,



2000; Hoebel *et al.*, 2009), lo cual, de acuerdo con estudios de inducción de Δ FosB causada por la administración crónica de opioides, suprimiría la expresión de dinorfinas en las MSNs D₁ (Zachariou *et al.*, 2006), y dado que la dinorfina tiene un efecto represivo sobre las vías de recompensa entre NAc y VTA que regula la señalización dopaminérgica (Nestler y Carlezon, 2006), se induciría una alteración en el mecanismo de retroalimentación negativa que va de NAc hacia ATV, provocando en última instancia estas conductas de compulsión, aumento de motivación y aumento en el consumo de stevia. Apoyando esta teoría se encuentran datos reportados con roedores que utilizan modelos de alimentación compulsiva inducida por el acceso limitado a una solución de azúcar, donde en tan sólo unas semanas bajo este régimen de alimentación, las ratas manifestaron signos de “abstinencia” opiácea en respuesta a la administración de naloxona (3 mg/kg s. c.) (Colantuoni *et al.*, 2002). De la misma manera, los síntomas de abstinencia fueron evidentes cuando el azúcar era retirada por 24 horas (Colantuoni *et al.*, 2002; Avena *et al.*, 2008). Además, un análisis cuantitativo con PCR y evidencia autoradiográfica reportaron una disminución del ARNm de encefalina (Spangler *et al.*, 2004) y una regulación positiva de la unión al receptor opioide μ en el NAc (Colantuoni *et al.*, 2001). Y dentro de la clínica, el consumo de alimentos dulces ha sido asociado con la analgesia en humanos, y se ha postulado que es el sabor, y no la sustancia en sí misma, lo que causa esta analgesia (Barr *et al.*, 1999).

Sin embargo, se debe ser cauteloso en estas conclusiones pues la activación de neuronas glutamatérgicas en amígdala y de la corteza prefrontal media también induce la expresión de Δ FosB en NAc (Lobo *et al.*, 2013). Sumando a esto, la actividad de las neuronas dopaminérgicas se encuentra fuertemente regulada por señales que reflejan el balance nutricional, por ejemplo, señales que comúnmente reportan balance energético negativo y promueven el apetito, tales como orexinas/hipocretinas (España *et al.*, 2011; Patyal *et al.*, 2012), grelina (Quarta *et al.*, 2009; Cone *et al.*, 2014, 2015), neuropéptido Y (NPY) (Quarta *et al.*, 2009) y el neuropéptido relacionado con agouti (AgRP) (Davis *et al.*, 2011) incrementan la actividad dopaminérgica mesolímbica; por otro lado, señales que reportan balance energético positivo y reducen el apetito, como el péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) (Egecioglu *et al.*, 2013), colecistoquinina (Helm *et al.*, 2003), insulina (Mebel *et al.*, 2012; Labouèbe *et al.*, 2013) y leptina (Fulton *et al.*, 2006; Perry *et al.*, 2010; Domingos *et al.*, 2011) tienden a reducir la actividad dopaminérgica mesolímbica. Más allá de que existen reportes indicando que los glucósidos de esteviol y el aglicón esteviol aumentan la producción de insulina en células pancreáticas β (Jeppesen *et al.*, 2000; Abudula *et al.*, 2008; Nordentoft *et al.*, 2008; Philippaert *et al.*, 2017) y que ratones C57BL/6J que consumieron una solución 12.5 mM de Ace-K por 40 semanas presentaron niveles elevados de leptina circulante (Cong *et al.*, 2013), sin embargo, los resultados obtenidos de los estudios que abordan los efectos de los NNS sobre el metabolismo de la glucosa o la liberación de incretinas aún son contradictorios (Ma *et al.*, 2010; Steinert *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2012).



CONCLUSIONES

General

El estímulo sensorial del sabor producido por consumir un alimento dulce de manera libre es suficiente para inducir cambios moleculares tanto en núcleo accumbens como en el estriado dorsal, áreas pertenecientes al sistema meso límbico dopaminérgico y que se encuentran involucradas en la regulación de conductas motivacionales y dirigidas.

Específicas

- La concentración elegida para la solución de extracto de stevia 0.2% fue preferida a partir del segundo día, aunque no fue lo suficientemente gratificante para promover el consumo excesivo de líquidos. Por otro lado, no se observó una preferencia de Ace-K pero tampoco se puede determinar que existió aversión pues el consumo de agua y Ace-K dentro del grupo de elección libre fue prácticamente el mismo durante los 20 días.
- No se observó que el consumo de alguno de los dos NNS promoviera la ganancia de peso o el consumo de alimento para compensar la deficiencia calórica de los alimentos dulces.
- Solamente la solución de extracto de stevia promovió la sobre expresión de Δ FosB en NAc Core, Shell y estriado dorsal en el grupo de elección libre indicando que las diferencias en la expresión entre tratamientos estaban influenciadas por las propiedades hedónicas del alimento y no por las características físicas de los alimentos *per se*.



BÍBLIOGRAFÍA

- AbdElwahab, A. H. *et al.* (2017) «Comparative effects of stevia rebaudiana and aspartame on hepato-renal function of diabetic rats: Biochemical and histological Approaches», *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(8), pp. 034-042. doi: 10.7324/JAPS.2017.70806.
- Abo Elnaga, N. I. E. *et al.* (2016) «Effect of stevia sweetener consumption as non-caloric sweetening on body weight gain and biochemical's parameters in overweight female rats», *Annals of Agricultural Sciences*. Faculty of Agriculture, Ain Shams University, 61(1), pp. 155-163. doi: 10.1016/j.aos.2015.11.008.
- Abou-Donia, M. B. *et al.* (2008) «Splenda alters gut microflora and increases intestinal P-glycoprotein and cytochrome P-450 in male rats», *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*. doi: 10.1080/15287390802328630.
- Abudula, R. *et al.* (2008) «Rebaudioside A directly stimulates insulin secretion from pancreatic beta cells: A glucose-dependent action via inhibition of ATP-sensitive K⁺-channels», *Diabetes, Obesity and Metabolism*. doi: 10.1111/j.1463-1326.2008.00864.x.
- Adinoff, B. (2004) «Neurobiologic Processes in Drug Reward and Addiction», *Harvard Review of Psychiatry*, 12(6), pp. 305-320. doi: 10.1080/10673220490910844.
- Aghajanyan, A., Movsisyan, Z. y Trchounian, A. (2017) «Antihyperglycemic and Antihyperlipidemic Activity of Hydroponic Stevia rebaudiana Aqueous Extract in Hyperglycemia Induced by Immobilization Stress in Rabbits», *BioMed Research International*, 2017, pp. 1-6. doi: 10.1155/2017/9251358.
- Ahmad, U. *et al.* (2018) «Antihyperlipidemic efficacy of aqueous extract of Stevia rebaudiana Bertoni in albino rats», *Lipids in Health and Disease*. *Lipids in Health and Disease*, 17(1), pp. 1-8. doi: 10.1186/s12944-018-0810-9.
- Airavaara, M. *et al.* (2004) «Increased extracellular dopamine concentrations and FosB/ Δ FosB expression in striatal brain areas of heterozygous GDNF knockout mice», *European Journal of Neuroscience*, 20(9), pp. 2336-2344. doi: 10.1111/j.1460-9568.2004.03700.x.
- Alcaraz-Iborra, M. *et al.* (2014) «Binge-like consumption of caloric and non-caloric palatable substances in ad libitum-fed C57BL/6J mice: Pharmacological and molecular evidence of orexin involvement», *Behavioural Brain Research*, 272, pp. 93-99. doi: 10.1016/j.bbr.2014.06.049.
- Allen, A. L. *et al.* (2013) «Bitterness of the non-nutritive sweetener acesulfame potassium varies with polymorphisms in TAS2R9 and TAS2R31», *Chemical Senses*, 38(5), pp. 379-389. doi: 10.1093/chemse/bjt017.
- Alonso-Alonso, M. *et al.* (2015) «Food reward system: Current perspectives and future research needs», *Nutrition Reviews*, 73(5), pp. 296-307. doi: 10.1093/nutrit/nuv002.
- Anton, S. D. *et al.* (2010) «Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels.», *Appetite*. Elsevier Ltd, 55(1), pp. 37-43. doi: 10.1016/j.appet.2010.03.009.
- Aponte, Y., Atasoy, D. y Sternson, S. M. (2011) «AGRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training», *Nature Neuroscience*, 14(3), pp. 351-355. doi: 10.1038/nn.2739.
- Aragona, B. J. *et al.* (2008) «Preferential Enhancement of Dopamine Transmission within the Nucleus Accumbens Shell by Cocaine Is Attributable to a Direct Increase in Phasic Dopamine Release Events», *Journal of Neuroscience*, 28(35), pp. 8821-8831. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2225-08.2008.
- Assaei, R. *et al.* (2016) «Hypoglycemic effect of aquatic extract of Stevia in pancreas of diabetic rats: PPAR γ -dependent regulation or antioxidant potential», *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 8(2), pp. 65-74. doi: 10.1016/j.metabol.2003.07.013.
- Avena, N. M. *et al.* (2008) «After daily bingeing on a sucrose solution, food deprivation induces anxiety and accumbens dopamine/acetylcholine imbalance», *Physiology and Behavior*, 94(3), pp. 309-315. doi: 10.1016/j.physbeh.2008.01.008.
- Avena, N. M. y Hoebel, B. G. (2003a) «A diet promoting sugar dependency causes behavioral cross-sensitization to a low dose of amphetamine», *Neuroscience*, 122(1), pp. 17-20. doi: 10.1016/S0306-4522(03)00502-5.
- Avena, N. M. y Hoebel, B. G. (2003b) «Amphetamine-sensitized rats show sugar-induced hyperactivity (cross-sensitization) and sugar hyperphagia», *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 74(3), pp. 635-639. doi: 10.1016/S0091-3057(02)01050-X.
- Avena, N. M., Long, K. A. y Hoebel, B. G. (2005) «Sugar-dependent rats show enhanced responding for sugar after abstinence: Evidence of a sugar deprivation effect», *Physiology and Behavior*, 84(3), pp. 359-362. doi: 10.1016/j.physbeh.2004.12.016.
- Awney, H. A., Massoud, M. I. y El-Maghrabi, S. (2011) «Long-term feeding effects of stevioside sweetener on some



- toxicological parameters of growing male rats», *Journal of Applied Toxicology*, 31(5), pp. 431-438. doi: 10.1002/jat.1604.
- Bachmanov, A. A. (2001) «Sweetener Preference of C57BL/6ByJ and 129P3/J Mice», *Chemical Senses*, 26(7), pp. 905-913. doi: 10.1093/chemse/26.7.905.
- Baldwin, A. E. *et al.* (2002) «Appetitive instrumental learning is impaired by inhibition of cAMP-dependent protein kinase within the nucleus accumbens», *Neurobiology of Learning and Memory*. doi: 10.1006/nlme.2000.4002.
- Barr, R. G. *et al.* (1999) «The Response of Crying Newborns to Sucrose», *Physiology & Behavior*, 66(3), pp. 409-417. doi: 10.1016/S0031-9384(98)00294-7.
- Bassareo, V. y Di Chiara, G. (1999) «Modulation of feeding-induced activation of mesolimbic dopamine transmission by appetitive stimuli and its relation to motivational state», *European Journal of Neuroscience*, 11(12), pp. 4389-4397. doi: 10.1046/j.1460-9568.1999.00843.x.
- Bassareo, V., Cucca, F., Frau, R., *et al.* (2015) «Differential activation of accumbens shell and core dopamine by sucrose reinforcement with nose poking and with lever pressing», *Behavioural Brain Research*. Elsevier B.V., 294, pp. 215-223. doi: 10.1016/j.bbr.2015.08.006.
- Bassareo, V., Cucca, F., Musio, P., *et al.* (2015) «Nucleus accumbens shell and core dopamine responsiveness to sucrose in rats: role of response contingency and discriminative/conditioned cues», *European Journal of Neuroscience*, 41(6), pp. 802-809. doi: 10.1111/ejn.12839.
- Bassareo, V., De Luca, M. A. y Di Chiara, G. (2002) «Differential Expression of Motivational Stimulus Properties by Dopamine in Nucleus Accumbens Shell versus Core and Prefrontal Cortex», *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(11), p. 4709-19. doi: 20026445.
- Beeler, J. A. *et al.* (2012) «Taste uncoupled from nutrition fails to sustain the reinforcing properties of food», *European Journal of Neuroscience*, 36(4), pp. 2533-2546. doi: 10.1111/j.1460-9568.2012.08167.x.
- Beny-Shefer, Y. *et al.* (2017) «Nucleus Accumbens Dopamine Signaling Regulates Sexual Preference for Females in Male Mice», *Cell Reports*. Elsevier Company., 21(11), pp. 3079-3088. doi: 10.1016/j.celrep.2017.11.062.
- Berendse, H. W., Graaf, Y. G. y Groenewegen, H. J. (1992) «Topographical organization and relationship with ventral striatal compartments of prefrontal corticostriatal projections in the rat», *Journal of Comparative Neurology*, 316(3), pp. 314-347. doi: 10.1002/cne.903160305.
- Berridge, K. C. (1996) «Food reward – brain structures of wanting and liking», *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 20(1), pp. 1-25. Disponible en: file:///Users/Domingo/Documents/Literature/E_Lit/.
- Berridge, K. C. (2009) «“Liking” and “wanting” food rewards: Brain substrates and roles in eating disorders», *Physiology and Behavior*, 97(5), pp. 537-550. doi: 10.1016/j.physbeh.2009.02.044.
- Berridge, K. C. *et al.* (2010) «The tempted brain eats: Pleasure and desire circuits in obesity and eating disorders», *Brain Research*. Elsevier B.V., 1350, pp. 43-64. doi: 10.1016/j.brainres.2010.04.003.
- Berridge, K. C. y Robinson, T. E. (1998) «What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience?», *Brain Research Reviews*, 28(3), pp. 309-369. doi: 10.1016/S0165-0173(98)00019-8.
- Bertran-Gonzalez, J. *et al.* (2008) «Opposing Patterns of Signaling Activation in Dopamine D1 and D2 Receptor-Expressing Striatal Neurons in Response to Cocaine and Haloperidol», *Journal of Neuroscience*, 28(22), pp. 5671-5685. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1039-08.2008.
- Betley, J. N. *et al.* (2015) «Neurons for hunger and thirst transmit a negative-valence teaching signal», *Nature*, 521(7551), pp. 180-185. doi: 10.1038/nature14416.
- Bhasker, S., Madhav, H. y Chinnamma, M. (2015) «Molecular evidence of insulinomimetic property exhibited by steviol and stevioside in diabetes induced L6 and 3T3L1 cells», *Phytomedicine*. doi: 10.1016/j.phymed.2015.07.007.
- Bian, X. *et al.* (2017) «The artificial sweetener acesulfame potassium affects the gut microbiome and body weight gain in CD-1 mice», *PLoS ONE*, 12(6), pp. 1-16. doi: 10.1371/journal.pone.0178426.
- Bibb, J. A. *et al.* (2001) «Effects of chronic exposure to cocaine are regulated by the neuronal protein Cdk5», *Nature*. doi: 10.1038/35066591.
- Bouret, S. G. (2004) «Formation of Projection Pathways from the Arcuate Nucleus of the Hypothalamus to Hypothalamic Regions Implicated in the Neural Control of Feeding Behavior in Mice», *Journal of Neuroscience*. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5369-03.2004.
- Brands, B. *et al.* (1979) «Suppression of food intake and body weight gain by naloxone in rats», *Life Sciences*, 24(19), pp. 1773-1778. doi: 10.1016/0024-3205(79)90066-3.



Brog, J. S. *et al.* (1993) «The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "Accumbens" part of the rat ventral striatum: Immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold», *Journal of Comparative Neurology*, 338(2), pp. 255-278. doi: 10.1002/cne.903380209.

Brown, H. D. *et al.* (2011) «Primary food reward and reward-predictive stimuli evoke different patterns of phasic dopamine signaling throughout the striatum», *European Journal of Neuroscience*. doi: 10.1111/j.1460-9568.2011.07914.x.

Brown, P. y Molliver, M. E. (2000) «Dual Serotonin (5-HT) Projections to the Nucleus Accumbens Core and Shell: Relation of the 5-HT Transporter to Amphetamine-Induced Neurotoxicity», *The Journal of Neuroscience*, 20(5), pp. 1952-1963. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-05-01952.2000.

Brown, R. J., de Banate, M. A. y Rother, K. I. (2010) «Artificial Sweeteners: A systematic review of metabolic effects in youth», *International Journal of Pediatric Obesity*, 5(4), pp. 305-312. doi: 10.3109/17477160903497027.

Bryant, C. E. *et al.* (2014) «Non-nutritive sweeteners: no class effect on the glycaemic or appetite responses to ingested glucose», *European Journal of Clinical Nutrition*, 68(5), pp. 629-631. doi: 10.1038/ejcn.2014.19.

Caboche, J. *et al.* (1993) «Haloperidol increases PPE mRNA levels in the caudal part of the nucleus accumbens in the rat», *NeuroReport*, 4(5), pp. 551-554. doi: 10.1097/00001756-199305000-00022.

Cannon, C. M. y Palmiter, R. D. (2003) «Reward without Dopamine», *The Journal of Neuroscience*, 23(34), pp. 10827-10831. doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-34-10827.2003.

Caprioli, D. *et al.* (2015) «Persistent palatable food preference in rats with a history of limited and extended access to methamphetamine self-administration», *Addiction Biology*, 20(5), pp. 913-926. doi: 10.1111/adb.12220.

Ceunen, S. y Geuns, J. M. C. (2013) «Steviol glycosides: Chemical diversity, metabolism, and function», *Journal of Natural Products*, pp. 1201-1228. doi: 10.1021/np400203b.

Cha, S. H. *et al.* (2008) «Differential effects of central fructose and glucose on hypothalamic malonyl-CoA and food intake», *Proceedings of the National Academy of Sciences*. doi: 10.1073/pnas.0809255105.

Chambers, R. A., Taylor, J. R. y Potenza, M. N. (2003) «Developmental neurocircuitry of motivation in adolescence: A critical period of addiction vulnerability», *American Journal of Psychiatry*. doi: 10.1176/appi.ajp.160.6.1041.

Chéron, J.-B. *et al.* (2017) «The anatomy of mammalian sweet taste receptors», *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 85(2), pp. 332-341. doi: 10.1002/prot.25228.

Church, W. H., Justice, J. B. y Neill, D. B. (1987) «Detecting behaviorally relevant changes in extracellular dopamine with microdialysis», *Brain Research*, 412(2), pp. 397-399. doi: 10.1016/0006-8993(87)91150-4.

Churchill, L. y Kalivas, P. W. (1994) «A topographically organized gamma-aminobutyric acid projection from the ventral pallidum to the nucleus accumbens in the rat», *Journal of Comparative Neurology*, 345(4), pp. 579-595. doi: 10.1002/cne.903450408.

COFEPRIS (2016) *Aditivos y Coadyuvantes en Alimentos*. Disponible en: [http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Aditivos y coadyuvantes en alimentos/Aditivos-y-coadyuvantes-en-alimentos.aspx](http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Aditivos-y-coadyuvantes-en-alimentos/Aditivos-y-coadyuvantes-en-alimentos.aspx) (Accedido: 5 de abril de 2018).

Colantuoni, C. *et al.* (2001) «Excessive sugar intake alters binding to dopamine and mu-opioid receptors in the brain», *Neuroreport*, 12(16), pp. 3549-3552. doi: 10.1097/00001756-200111160-00035.

Colantuoni, C. *et al.* (2002) «Evidence That Intermittent, Excessive Sugar Intake Causes Endogenous Opioid Dependence», *Obesity Research*, 10(6), pp. 478-488. doi: 10.1038/oby.2002.66.

Colby, C. R. *et al.* (2003) «Striatal cell type-specific overexpression of DeltaFosB enhances incentive for cocaine.», *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. doi: 23/6/2488 [pii].

Cone, J. J., McCutcheon, J. E. y Roitman, M. F. (2014) «Ghrelin Acts as an Interface between Physiological State and Phasic Dopamine Signaling», *Journal of Neuroscience*, 34(14), pp. 4905-4913. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4404-13.2014.

Cone, J. J., Roitman, J. D. y Roitman, M. F. (2015) «Ghrelin regulates phasic dopamine and nucleus accumbens signaling evoked by food-predictive stimuli», *Journal of Neurochemistry*, 133(6), pp. 844-856. doi: 10.1111/jnc.13080.

Cong, W. na *et al.* (2013) «Long-Term Artificial Sweetener Acesulfame Potassium Treatment Alters Neurometabolic Functions in C57BL/6J Mice», *PLoS ONE*. doi: 10.1371/journal.pone.0070257.

Corbit, L. H., Muir, J. L. y Balleine, B. W. (2001) «The Role of the Nucleus Accumbens in Instrumental Conditioning: Evidence of a Functional Dissociation between Accumbens Core and Shell», *The Journal of Neuroscience*, 21(9), pp. 3251-3260. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-09-03251.2001.

Crews, F., He, J. y Hodge, C. (2007) «Adolescent cortical development: A critical period of vulnerability for addiction», *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. doi: 10.1016/j.pbb.2006.12.001.



- Curry, L. L. y Roberts, A. (2008) «Subchronic toxicity of rebaudioside A», *Food and Chemical Toxicology*, 46(7 SUPPL.), pp. 11-20. doi: 10.1016/j.fct.2008.04.042.
- Dautan, D. *et al.* (2014) «A Major External Source of Cholinergic Innervation of the Striatum and Nucleus Accumbens Originates in the Brainstem», *Journal of Neuroscience*, 34(13), pp. 4509-4518. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5071-13.2014.
- Dautan, D. *et al.* (2016) «Extrinsic Sources of Cholinergic Innervation of the Striatal Complex: A Whole-Brain Mapping Analysis», *Frontiers in Neuroanatomy*, 10(January), pp. 1-10. doi: 10.3389/fnana.2016.00001.
- Davidson, T. L. y Swithers, S. E. (2004) «A Pavlovian approach to the problem of obesity», *International Journal of Obesity*, 28(7), pp. 933-935. doi: 10.1038/sj.ijo.0802660.
- Davis, C. *et al.* (2013) «"Food addiction" and its association with a dopaminergic multilocus genetic profile», *Physiology and Behavior*. Elsevier Inc., 118, pp. 63-69. doi: 10.1016/j.physbeh.2013.05.014.
- Davis, J. F. *et al.* (2011) «Central melanocortins modulate mesocorticolimbic activity and food seeking behavior in the rat», *Physiology & Behavior*, 102(5), pp. 491-495. doi: 10.1016/j.physbeh.2010.12.017.
- De Jong, J. W., Vanderschuren, L. J. M. J. y Adan, R. A. H. (2016) «The mesolimbic system and eating addiction: What sugar does and does not do», *Current Opinion in Behavioral Sciences*. Elsevier Ltd, 9, pp. 118-125. doi: 10.1016/j.cobeha.2016.03.004.
- de Koning, L. *et al.* (2011) «Sugar-sweetened and artificially sweetened beverage consumption and risk of type 2 diabetes in men», *Am J Clin Nutr*, 93(3), pp. 1321-1327. doi: 10.3945/ajcn.110.007922.INTRODUCTION.
- De La Peña, C. (2010) «Artificial sweetener as a historical window to culturally situated health», *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1190, pp. 159-165. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05253.x.
- de Weijer, B. A. *et al.* (2011) «Lower striatal dopamine D2/3 receptor availability in obese compared with non-obese subjects», *EJNMMI Research*, 1(1), p. 37. doi: 10.1186/2191-219X-1-37.
- Delfs, J. M. *et al.* (1998) «Origin of noradrenergic afferents to the shell subregion of the nucleus accumbens: anterograde and retrograde tract-tracing studies in the rat», *Brain Research*, 806(2), pp. 127-140. doi: 10.1016/S0006-8993(98)00672-6.
- Deng, Y. P., Lei, W. L. y Reiner, A. (2006) «Differential perikaryal localization in rats of D1 and D2 dopamine receptors on striatal projection neuron types identified by retrograde labeling», *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 32(2-4), pp. 101-116. doi: 10.1016/j.jchemneu.2006.07.001.
- Depoortere, I. (2015) «Taste receptors in the gut tune the release of peptides in response to nutrients», *Peptides*, 66, pp. 9-12. doi: 10.1016/j.peptides.2015.01.013.
- DeSimone, J. A. *et al.* (2012) «Changes in taste receptor cell [Ca²⁺] i modulate chorda tympani responses to salty and sour taste stimuli», *Journal of Neurophysiology*, 108(12), pp. 3206-3220. doi: 10.1152/jn.00916.2011.
- Deutch, A. Y. y Cameron, D. S. (1992) «Pharmacological characterization of dopamine systems in the nucleus accumbens core and shell», *Neuroscience*, 46(1), pp. 49-56. doi: 10.1016/0306-4522(92)90007-O.
- Dhingra, R. *et al.* (2007) «Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community», *Circulation*, 116(5), pp. 480-488. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.689935.
- Di Chiara, G. (2002) «Nucleus accumbens shell and core dopamine: Differential roles in associative learning and drug addiction», *Behavioural Pharmacology*, 13(5-6), pp. 481-482.
- Domingos, A. I. *et al.* (2011) «Leptin regulates the reward value of nutrient», *Nature Neuroscience*, 14(12), pp. 1562-1568. doi: 10.1038/nn.2977.
- Egecioglu, E., Engel, J. A. y Jerlhag, E. (2013) «The Glucagon-Like Peptide 1 Analogue Exendin-4 Attenuates the Nicotine-Induced Locomotor Stimulation, Accumbal Dopamine Release, Conditioned Place Preference as well as the Expression of Locomotor Sensitization in Mice», *PLoS ONE*. Editado por E. Bezaud, 8(10), p. e77284. doi: 10.1371/journal.pone.0077284.
- Elias, C. F. *et al.* (1999) «Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area», *Neuron*. doi: 10.1016/S0896-6273(01)80035-0.
- España, R. A. *et al.* (2011) «Hypocretin 1/orexin A in the ventral tegmental area enhances dopamine responses to cocaine and promotes cocaine self-administration», *Psychopharmacology*, 214(2), pp. 415-426. doi: 10.1007/s00213-010-2048-8.
- European Commission. Scientific Committee on Food (2000) «Re-evaluation of acesulfame K with reference to the previous SCF opinion of 1991», pp. 1-8. Disponible en: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_out52_en.pdf (Accedido: 20 de abril de 2018).
- Feijó, F. de M. *et al.* (2013) «Saccharin and aspartame, compared with sucrose, induce greater weight gain in adult Wistar



- rats, at similar total caloric intake levels», *Appetite*. doi: 10.1016/j.appet.2012.10.009.
- Fenu, S. *et al.* (2006) «Morphine-conditioned single-trial place preference: Role of nucleus accumbens shell dopamine receptors in acquisition, but not expression», *Psychopharmacology*, 187(2), pp. 143-153. doi: 10.1007/s00213-006-0415-2.
- Ferreira, E. B. *et al.* (2006) «Comparative effects of Stevia rebaudiana leaves and stevioside on glycaemia and hepatic gluconeogenesis», *Planta Medica*. doi: 10.1055/s-2006-931586.
- Figlewicz, D. P. *et al.* (2009) «Effect of moderate intake of sweeteners on metabolic health in the rat», *Physiology and Behavior*. Elsevier B.V., 98(5), pp. 618-624. doi: 10.1016/j.physbeh.2009.09.016.
- Figlewicz, D. P. *et al.* (2010) «Corrigendum to "Effect of moderate intake of sweeteners on metabolic health in the rat" [Physiology & Behavior. 98/5 (2009) 618–624]», *Physiology & Behavior*. Elsevier B.V., 99(5), p. 691. doi: 10.1016/j.physbeh.2009.11.011.
- Finger, T. E. (2005) «ATP Signaling Is Crucial for Communication from Taste Buds to Gustatory Nerves», *Science*, 310(5753), pp. 1495-1499. doi: 10.1126/science.1118435.
- Fitch, C. y Keim, K. S. (2012) «Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Use of Nutritive and Nonnutritive Sweeteners», *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 112(5), pp. 739-758. doi: 10.1016/j.jand.2012.03.009.
- Fowler, S. P. *et al.* (2008) «Fueling the Obesity Epidemic? Artificially Sweetened Beverage Use and Long-term Weight Gain», *Obesity*, 16(8), pp. 1894-1900. doi: 10.1038/oby.2008.284.
- Fowler, S. P. G. (2016) «Low-calorie sweetener use and energy balance: Results from experimental studies in animals, and large-scale prospective studies in humans», *Physiology and Behavior*. Elsevier B.V., 164, pp. 517-523. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.04.047.
- Friemel (2010) «Reward sensitivity for a palatable food reward peaks during pubertal developmental in rats», *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 4(July), pp. 1-10. doi: 10.3389/fnbeh.2010.00039.
- Fukushima, A. *et al.* (2014) «Expression of phosphorylated cyclic AMP response element-binding protein in melanin-concentrating hormone neurons and orexin neurons in male and female rats during ad-libitum feeding», *NeuroReport*, 25(10), pp. 766-770. doi: 10.1097/WNR.0000000000000172.
- Fulton, S. *et al.* (2006) «Leptin Regulation of the Mesoaccumbens Dopamine Pathway», *Neuron*, 51(6), pp. 811-822. doi: 10.1016/j.neuron.2006.09.006.
- Garcia-Almeida, J. M., Casado Fdez, G. M. y Garcia Aleman, J. (2013) «[A current and global review of sweeteners. Regulatory aspects]», *Nutr Hosp*, 28 Suppl 4, pp. 17-31. doi: 10.3305/nh.2013.28.sup4.6793.
- Gardner, E. L. (2011) «Addiction and Brain Reward and Antireward Pathways», en *Chronic Pain and Addiction*. Basel: KARGER, pp. 22-60. doi: 10.1159/000324065.
- Gaysinskaya, V. A. *et al.* (2011) «Hyperphagia induced by sucrose: Relation to circulating and CSF glucose and corticosterone and orexigenic peptides in the arcuate nucleus», *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 97(3), pp. 521-530. doi: 10.1016/j.pbb.2010.10.008.
- Gerfen, C. R. y Surmeier, D. J. (2011) «Modulation of Striatal Projection Systems by Dopamine», *Annual Review of Neuroscience*, 34(1), pp. 441-466. doi: 10.1146/annurev-neuro-061010-113641.
- Geuns, J. M. . (2003) «Stevioside», *Phytochemistry*, 64(5), pp. 913-921. doi: 10.1016/S0031-9422(03)00426-6.
- Geuns, J. M. C. *et al.* (2003) «Metabolism of stevioside in pigs and intestinal absorption characteristics of stevioside, rebaudioside A and steviol», *Food and Chemical Toxicology*, 41(11), pp. 1599-1607. doi: 10.1016/S0278-6915(03)00191-1.
- Geuns, J. M. C. *et al.* (2006) «Identification of steviol glucuronide in human urine», *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(7), pp. 2794-2798. doi: 10.1021/jf052693e.
- Giuliano, C. y Cottone, P. (2015) «The role of the opioid system in binge eating disorder», *CNS Spectrums*, 20(06), pp. 537-545. doi: 10.1017/S1092852915000668.
- Gong, W. *et al.* (1999) «Dopamine D1/D2 agonists injected into nucleus accumbens and ventral pallidum differentially affect locomotor activity depending on site», *Neuroscience*, 93(4), pp. 1349-1358. doi: 10.1016/S0306-4522(99)00235-3.
- Grandison, L. y Guidotti, A. (1977) «Stimulation of food intake by muscimol and beta endorphin», *Neuropharmacology*, 16(7-8), pp. 533-536. doi: 10.1016/0028-3908(77)90019-3.
- Gregersen, S. *et al.* (2004) «Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects», *Metabolism: Clinical and Experimental*. doi: 10.1016/j.metabol.2003.07.013.
- Groenewegen, H. J. *et al.* (1996) «Convergence and Seregation of Ventral Striatal Inputs and Outputs», *Annals of the New*



York Academy of Sciences, pp. 49-63.

Gropp, E. *et al.* (2005) «Agouti-related peptide-expressing neurons are mandatory for feeding», *Nature Neuroscience*, 8(10), pp. 1289-1291. doi: 10.1038/nn1548.

Guo, Q. *et al.* (2015) «Whole-brain mapping of inputs to projection neurons and cholinergic interneurons in the dorsal striatum», *PLoS ONE*, 10(4), pp. 1-15. doi: 10.1371/journal.pone.0123381.

Haber, S. N. y Knutson, B. (2010) «The reward circuit: Linking primate anatomy and human imaging», *Neuropsychopharmacology*. Nature Publishing Group, 35(1), pp. 4-26. doi: 10.1038/npp.2009.129.

Hajnal, A. y Norgren, R. (2001) «Accumbens dopamine mechanisms in sucrose intake», *Brain Research*, 904(1), pp. 76-84. doi: 10.1016/S0006-8993(01)02451-9.

Hajnal, A. y Norgren, R. (2005) «Taste pathways that mediate accumbens dopamine release by sapid sucrose», *Physiology and Behavior*, 84(3), pp. 363-369. doi: 10.1016/j.physbeh.2004.12.014.

Hajnal, A., Smith, G. P. y Norgren, R. (2004) «Oral sucrose stimulation increases accumbens dopamine in the rat», *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 286(1), pp. R31-R37. doi: 10.1152/ajpregu.00282.2003.

Hanson, J. (2016) «From Caá-ehé to a commercial sweetener – the diterpenoid glycosides of *Stevia rebaudiana*», *Science Progress*, 99(4), pp. 413-419. doi: 10.3184/003685016X14773090197508.

Heijboer, A. C. *et al.* (2006) «Gut-brain axis: Regulation of glucose metabolism», *Journal of Neuroendocrinology*, 18(12), pp. 883-894. doi: 10.1111/j.1365-2826.2006.01492.x.

Heimer, L. *et al.* (1991) «Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat», *Neuroscience*, 41(1), pp. 89-125. doi: 10.1016/0306-4522(91)90202-Y.

Helm, K. A., Rada, P. y Hoebel, B. G. (2003) «Cholecystokinin combined with serotonin in the hypothalamus limits accumbens dopamine release while increasing acetylcholine: a possible satiation mechanism», *Brain Research*, 963(1-2), pp. 290-297. doi: 10.1016/S0006-8993(02)04051-9.

Hernandez, L. y Hoebel, B. G. (1988a) «Feeding and hypothalamic stimulation increase dopamine turnover in the accumbens», *Physiology & Behavior*, 44(4-5), pp. 599-606. doi: 10.1016/0031-9384(88)90324-1.

Hernandez, L. y Hoebel, B. G. (1988b) «Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis», *Life Sciences*. doi: 10.1016/0024-3205(88)90036-7.

Hoebel, B. G. *et al.* (2009) «Natural addiction: A behavioral and circuit model based on sugar addiction in rats», *Journal of Addiction Medicine*, 3(1), pp. 33-41. doi: 10.1097/ADM.0b013e31819aa621.

Hofer, D., Puschel, B. y Drenckhahn, D. (1996) «Taste receptor-like cells in the rat gut identified by expression of alpha-gustducin.», *Proceedings of the National Academy of Sciences*. doi: 10.1073/pnas.93.13.6631.

Hughes, A. M., Everitt, B. J. y Herbert, J. (1987) «Selective effects of β -endorphin infused into the hypothalamus, preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis on the sexual and ingestive behaviour of male rats», *Neuroscience*, 23(3), pp. 1063-1073. doi: 10.1016/0306-4522(87)90181-3.

Hutapea, A. M. *et al.* (1997) «Digestion of Stevioside, a Natural Sweetener, by Various Digestive Enzymes», pp. 177-186. doi: 10.3164/jcbn.23.177.

Huynh, C. *et al.* (2017) «Rats quit nicotine for a sweet reward following an extensive history of nicotine use», *Addiction Biology*, 22(1), pp. 142-151. doi: 10.1111/adb.12306.

Ikemoto, S. (2007) «Dopamine reward circuitry: Two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex», *Brain Research Reviews*, 56(1), pp. 27-78. doi: 10.1016/j.brainresrev.2007.05.004.

Ikemoto, S. y Panksepp, J. (1999) «The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking», *Brain Research Reviews*, 31(1), pp. 6-41. doi: 10.1016/S0165-0173(99)00023-5.

Ikemoto, S., Yang, C. y Tan, A. (2015) «Basal ganglia circuit loops, dopamine and motivation: A review and enquiry», *Behavioural Brain Research*. Elsevier B.V., 290(May), pp. 17-31. doi: 10.1016/j.bbr.2015.04.018.

Ilango, A. *et al.* (2014) «Similar Roles of Substantia Nigra and Ventral Tegmental Dopamine Neurons in Reward and Aversion», *The Journal of Neuroscience*, 34(3), pp. 817-822. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1703-13.2014.

Imamura, F. *et al.* (2015) «Consumption of sugar sweetened beverages, artificially sweetened beverages, and fruit juice and incidence of type 2 diabetes: systematic review, meta-analysis, and estimation of population attributable fraction», *BMJ*, 351, p. h3576. doi: 10.1136/bmj.h3576.



Ito, R., Robbins, T. W. y Everitt, B. J. (2004) «Differential control over cocaine-seeking behavior by nucleus accumbens core and shell», *Nature neuroscience*, 7(4), pp. 389-397. doi: 10.1038/nn1217.

JECFA (2016) *82nd Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) meeting – Food additives. Summary and conclusions, 2016*. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-bl839e.pdf> (Accedido: 5 de abril de 2018).

Jeppesen, P. B. *et al.* (2000) «Stevioside acts directly on pancreatic β cells to secrete insulin: Actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate—sensitive K^+ -channel activity», *Metabolism*, 49(2), pp. 208-214. doi: 10.1016/S0026-0495(00)91325-8.

Johnson, P. M. y Kenny, P. J. (2010) «Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats», *Nature Neuroscience*, 13(5), pp. 635-641. doi: 10.1038/nn.2519.

Karlsson, H. K. *et al.* (2015) «Obesity Is Associated with Decreased μ -Opioid But Unaltered Dopamine D2 Receptor Availability in the Brain.», *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 35(9), pp. 3959-65. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4744-14.2015.

Katz, R. J. (1980) «Behavioral effects of dynorphin — a novel opioid neuropeptide», *Neuropharmacology*, 19(8), pp. 801-803. doi: 10.1016/0028-3908(80)90074-X.

Kawaguchi, Y. *et al.* (1995) «Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization», *Trends in Neurosciences*, 18(12), pp. 527-535. doi: 10.1016/0166-2236(95)98374-8.

Kelley, A. E. (2004) «Ventral striatal control of appetitive motivation: Role in ingestive behavior and reward-related learning», en *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. doi: 10.1016/j.neubiorev.2003.11.015.

Kelley, A. E. *et al.* (2002) «Opioid modulation of taste hedonics within the ventral striatum», *Physiology & Behavior*, 76(3), pp. 365-377. doi: 10.1016/S0031-9384(02)00751-5.

Kelz, M. B. *et al.* (1999) «Expression of the transcription factor Δ FosB in the brain controls sensitivity to cocaine», *Nature*. doi: 10.1038/45790.

Kemp, J. M. y Powell, T. P. S. (1971) «The Structure of the Caudate Nucleus of the Cat: Light and Electron Microscopy», *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 262(845), pp. 383-401. doi: 10.1098/rstb.1971.0102.

Kenny, P. J. (2011) «Common cellular and molecular mechanisms in obesity and drug addiction», *Nature Reviews Neuroscience*. Nature Publishing Group, 12(11), pp. 638-651. doi: 10.1038/nrn3105.

Kessler, R. M. *et al.* (2014) «Changes in dopamine release and dopamine D2/3 receptor levels with the development of mild obesity», *Synapse*, 68(7), p. n/a-n/a. doi: 10.1002/syn.21738.

King, B. M. *et al.* (1979) «Naloxone-induced suppression of food intake in normal and hypothalamic obese rats», *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 11(6), pp. 729-732. doi: 10.1016/0091-3057(79)90272-7.

Koo, J. W. *et al.* (2014) «Loss of BDNF signaling in D1R-expressing NAc neurons enhances morphine reward by reducing GABA inhibition», *Neuropsychopharmacology*, 39(11), pp. 2646-2653. doi: 10.1038/npp.2014.118.

Koós, T. y Tepper, J. M. (1999) «Inhibitory control of neostriatal projection neurons by GABAergic interneurons», *Nature Neuroscience*, 2(5), pp. 467-472. doi: 10.1038/8138.

Koyama, E. *et al.* (2003) «Absorption and metabolism of glycosidic sweeteners of stevia mixture and their aglycone, steviol, in rats and humans», *Food and Chemical Toxicology*, 41(6), pp. 875-883. doi: 10.1016/S0278-6915(03)00039-5.

Kravitz, A. V., Tye, L. D. y Kreitzer, A. C. (2012) «Distinct roles for direct and indirect pathway striatal neurons in reinforcement», *Nature Neuroscience*. Nature Publishing Group, 15(6), pp. 816-818. doi: 10.1038/nn.3100.

Kuhn, C. (2004) «Bitter Taste Receptors for Saccharin and Acesulfame K», *Journal of Neuroscience*. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1225-04.2004.

Kumar, A. *et al.* (2005) «Chromatin remodeling is a key mechanism underlying cocaine-induced plasticity in striatum», *Neuron*. doi: 10.1016/j.neuron.2005.09.023.

Kumar, R., Mitchell, E. y Stolerman, I. P. (1971) «Disturbed patterns of behaviour in morphine tolerant and abstinent rats», *British Journal of Pharmacology*, 42(3), pp. 473-484. doi: 10.1111/j.1476-5381.1971.tb07132.x.

Labouèbe, G. *et al.* (2013) «Insulin induces long-term depression of ventral tegmental area dopamine neurons via endocannabinoids», *Nature Neuroscience*, 16(3), pp. 300-308. doi: 10.1038/nn.3321.

Lawrence, J. F. (2003) «ACESULFAME | ACESULPHAME», en *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Elsevier, pp. 1-3. doi: 10.1016/B0-12-227055-X/00002-X.

Lecca, D. *et al.* (2007) «Differential neurochemical and behavioral adaptation to cocaine after response contingent and



- noncontingent exposure in the rat», *Psychopharmacology*, 191(3), pp. 653-667. doi: 10.1007/s00213-006-0496-y.
- Lenoir, M. *et al.* (2007) «Intense sweetness surpasses cocaine reward», *PLoS ONE*, 2(8). doi: 10.1371/journal.pone.0000698.
- Lenoir, M. *et al.* (2013) «Extended heroin access increases heroin choices over a potent nondrug alternative.», *Neuropsychopharmacology*. Nature Publishing Group, 38(7), pp. 1209-1220. doi: 10.1038/npp.2013.17.
- Li, J. *et al.* (2010) «Region-specific induction of FosB/ Δ FosB by voluntary alcohol intake: Effects of naltrexone», *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 34(10), pp. 1742-1750. doi: 10.1111/j.1530-0277.2010.01261.x.
- Lobo, M. K. *et al.* (2010) «Cell Type-Specific Loss of BDNF Signaling Mimics Optogenetic Control of Cocaine Reward», *Science*, 330(6002), pp. 385-390. doi: 10.1126/science.1188472.
- Lobo, M. K. *et al.* (2013) « FosB Induction in Striatal Medium Spiny Neuron Subtypes in Response to Chronic Pharmacological, Emotional, and Optogenetic Stimuli», *Journal of Neuroscience*, 33(47), pp. 18381-18395. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1875-13.2013.
- Lowy, M. T., Starkey, C. y Yim, G. K. W. (1981) «Stereoselective effects of opiate agonists and antagonists on ingestive behavior in rats», *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 15(4), pp. 591-596. doi: 10.1016/0091-3057(81)90215-X.
- Lu, X.-Y., Behnam Ghasemzadeh, M. y Kalivas, P. W. (1997) «Expression of D 1 receptor, D 2 receptor, substance P and enkephalin messenger RNAs in the neurons projecting from the nucleus accumbens», *Neuroscience*, 82(3), pp. 767-780.
- Lutsey, P. L., Steffen, L. M. y Stevens, J. (2008) «Dietary Intake and the Development of the Metabolic Syndrome», *Circulation*, 117(6), pp. 754-761. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.716159.
- Ma, J. *et al.* (2010) «Effect of the artificial sweetener, sucralose, on small intestinal glucose absorption in healthy human subjects», *British Journal of Nutrition*, 104(06), pp. 803-806. doi: 10.1017/S0007114510001327.
- Mace, O. J. *et al.* (2007) «Sweet taste receptors in rat small intestine stimulate glucose absorption through apical GLUT2», *The Journal of Physiology*, 582(1), pp. 379-392. doi: 10.1113/jphysiol.2007.130906.
- Magnuson, B. A. *et al.* (2016) «Biological fate of low-calorie sweeteners», *Nutrition Reviews*, 74(11), pp. 670-689. doi: 10.1093/nutrit/nuw032.
- Mallet, N. *et al.* (2005) «Feedforward Inhibition of Projection Neurons by Fast-Spiking GABA Interneurons in the Rat Striatum In Vivo», *Journal of Neuroscience*, 25(15), pp. 3857-3869. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5027-04.2005.
- Margolskee, R. F. (2002) «Molecular mechanisms of bitter and sweet taste transduction», *Journal of Biological Chemistry*, pp. 1-4. doi: 10.1074/jbc.R100054200.
- Margules, D. L. *et al.* (1978) « β -Endorphin is associated with overeating in genetically obese mice (ob/ob) and rats (fa/fa)», *Science*, 202(4371), pp. 988-991. doi: 10.1126/science.715455.
- Mark, G. P. *et al.* (1994) «An appetitively conditioned taste elicits a preferential increase in mesolimbic dopamine release», *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 48(3), pp. 651-660. doi: 10.1016/0091-3057(94)90327-1.
- Mark, G. P., Blander, D. S. y Hoebel, B. G. (1991) «A conditioned stimulus decreases extracellular dopamine in the nucleus accumbens after the development of a learned taste aversion», *Brain Research*, 551(1-2), pp. 308-310. doi: 10.1016/0006-8993(91)90946-S.
- Mathur, S. *et al.* (2017) «Critical review on steviol glycosides: Pharmacological, toxicological and therapeutic aspects of high potency zero caloric sweetener», *International Journal of Pharmacology*, 13(7), pp. 916-928. doi: 10.3923/ijp.2017.916.928.
- McCaleb, M. L. y Myers, R. D. (1979) «Striatal dopamine release is altered by glucose and insulin during push-pull perfusion of the rat's caudate nucleus», *Brain Research Bulletin*, 4(5), pp. 651-656. doi: 10.1016/0361-9230(79)90108-4.
- McCutcheon, J. E. (2015) «The role of dopamine in the pursuit of nutritional value», *Physiology & Behavior*. Elsevier Inc., 152, pp. 408-415. doi: 10.1016/j.physbeh.2015.05.003.
- Mebel, D. M. *et al.* (2012) «Insulin in the ventral tegmental area reduces hedonic feeding and suppresses dopamine concentration via increased reuptake», *European Journal of Neuroscience*, 36(3), pp. 2336-2346. doi: 10.1111/j.1460-9568.2012.08168.x.
- Medler, K. F. (2015) «Calcium signaling in taste cells», *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*. Elsevier B.V., 1853(9), pp. 2025-2032. doi: 10.1016/j.bbamcr.2014.11.013.
- Meredith, G. E. *et al.* (1992) «Morphological differences between projection neurons of the core and shell in the nucleus accumbens of the rat», *Neuroscience*, 50(1), pp. 149-162. doi: 10.1016/0306-4522(92)90389-J.
- Michael, W., Hrycyszyn, A. W. y Brudzynski, S. M. (1996) «Subpallidal outputs to the nucleus accumbens and the ventral tegmental area: Anatomical and electrophysiological studies», *Brain Research*, 740(1-2), pp. 151-161. doi: 10.1016/S0006-



8993(96)00859-1.

Mitra, A. *et al.* (2010) «Chronic sugar intake dampens feeding-related activity of neurons synthesizing a satiety mediator, oxytocin», *Peptides*, 31(7), pp. 1346-1352. doi: 10.1016/j.peptides.2010.04.005.

Mizoguchi, N., Kobayashi, M. y Muramoto, K. (2016) «Integration of olfactory and gustatory chemosignals in the insular cortex», *Journal of Oral Biosciences*. Elsevier, 58(3), pp. 81-84. doi: 10.1016/j.job.2016.03.002.

Momtazi-Borojeni, A. A. *et al.* (2017) «A Review on the Pharmacology and Toxicology of Steviol Glycosides Extracted from *Stevia rebaudiana*», *Current Pharmaceutical Design*, 23(11), pp. 1616-1622. doi: 10.2174/1381612822666161021142835.

Muhlhausler, B. S. y Gugusheff, J. (2016) «Prenatal Programming of the Mesolimbic Reward Pathway and Food Preferences», *en*, pp. 169-188. doi: 10.1007/978-1-4939-3014-2_8.

Muller, D. L. (2005) «D1 Dopamine Receptors Modulate FosB Induction in Rat Striatum after Intermittent Morphine Administration», *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. doi: 10.1124/jpet.105.083410.

Muschamp, J. W. *et al.* (2012) «ΔfosB enhances the rewarding effects of cocaine while reducing the pro-depressive effects of the kappa-opioid receptor agonist U50488», *Biological Psychiatry*. doi: 10.1016/j.biopsych.2011.08.011.

Mysels, D. J. y Sullivan, M. A. (2011) «The relationship between opioid and sugar intake: review of evidence and clinical applications.», *Journal of opioid management*, 6(6), pp. 445-52. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21269006>.

Nakajima, K. *et al.* (2016) «Gs-coupled GPCR signalling in AgRP neurons triggers sustained increase in food intake», *Nature Communications*, 7(1), p. 10268. doi: 10.1038/ncomms10268.

Naneix, F. *et al.* (2016) «Long-lasting deficits in hedonic and nucleus accumbens reactivity to sweet rewards by sugar overconsumption during adolescence.», *The European journal of neuroscience*, pp. 1-10. doi: 10.1111/ejn.13149.

Nathan, P. J. y Bullmore, E. T. (2009) «From taste hedonics to motivational drive: central μ-opioid receptors and binge-eating behaviour», *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 12(07), p. 995. doi: 10.1017/S146114570900039X.

Nelson, G. *et al.* (2001) «Mammalian Sweet Taste Receptors», *Cell*, 106(3), pp. 381-390. doi: 10.1016/S0092-8674(01)00451-2.

Nestler, E. J. (2004) «Molecular mechanisms of drug addiction», *Neuropharmacology*, 47(SUPPL. 1), pp. 24-32. doi: 10.1016/j.neuropharm.2004.06.031.

Nestler, E. J. (2008) «Review. Transcriptional mechanisms of addiction: role of DeltaFosB.», *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 363(1507), pp. 3245-55. doi: 10.1098/rstb.2008.0067.

Nestler, E. J. y Carlezon, W. A. (2006) «The Mesolimbic Dopamine Reward Circuit in Depression», *Biological Psychiatry*. doi: 10.1016/j.biopsych.2005.09.018.

Nettleton, J. *et al.* (2009) «Diet Soda Intake and Risk of Incident Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis», *Diabetes care*, 32(4), pp. 688-694. doi: 10.2337/dc08-1799.

Nicola, S. M. (2016) «Reassessing wanting and liking in the study of mesolimbic influence on food intake», *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 311(5), pp. R811-R840. doi: 10.1152/ajpregu.00234.2016.

Nikiforov, A. I. *et al.* (2013) «Metabolism and toxicity studies supporting the safety of rebaudioside D», *International Journal of Toxicology*, 32(4), pp. 261-273. doi: 10.1177/1091581813492828.

Nikiforov, A. I. y Eapen, A. K. (2008) «A 90-day oral (dietary) toxicity study of rebaudioside a in Sprague-Dawley rats», *International Journal of Toxicology*, 27(1), pp. 65-80. doi: 10.1080/10915810701876752.

Nordentoft, I. *et al.* (2008) «Isosteviol increases insulin sensitivity and changes gene expression of key insulin regulatory genes and transcription factors in islets of the diabetic KKAy mouse», *Diabetes, Obesity and Metabolism*. doi: 10.1111/j.1463-1326.2007.00836.x.

Norgren, R. (1976) «Taste pathways to hypothalamus and amygdala», *Journal of Comparative Neurology*, 166(1), pp. 17-30. doi: 10.1002/cne.901660103.

Nye, H. E. *et al.* (1995) «Pharmacological studies of the regulation of chronic FOS-related antigen induction by cocaine in the striatum and nucleus accumbens.», *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*.

Ochoa, M. *et al.* (2014) «Dietary sugars: their detection by the gut–brain axis and their peripheral and central effects in health and diseases», *European Journal of Nutrition*, pp. 1-24. doi: 10.1007/s00394-014-0776-y.

Olausson, P. (2006) « FosB in the Nucleus Accumbens Regulates Food-Reinforced Instrumental Behavior and Motivation», *Journal of Neuroscience*, 26(36), pp. 9196-9204. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1124-06.2006.



- Olds, J. y Milner, P. (1954) «Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain.», *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 47(6), pp. 419-427. doi: 10.1037/h0058775.
- Palmnäs, M. S. A. *et al.* (2014) «Low-dose aspartame consumption differentially affects gut microbiota-host metabolic interactions in the diet-induced obese rat», *PLoS ONE*, 9(10). doi: 10.1371/journal.pone.0109841.
- Park, S. W., Roohbakhsh, A. y Beninger, R. J. (2014) «8-pCPT, an Epac activator, impairs conditioned place preference based on nucleus accumbens amphetamine in rats», *Acta Neuropsychiatrica*, 26(02), pp. 104-111. doi: 10.1017/neu.2013.37.
- Patel, S. *et al.* (1995) «Localization of Serotonin4 Striatonigral Pathway Receptors in the», 69(4).
- Patyal, R., Woo, E. Y. y Borgland, S. L. (2012) «Local hypocretin-1 modulates terminal dopamine concentration in the nucleus accumbens shell», *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 6. doi: 10.3389/fnbeh.2012.00082.
- Paxinos, G. y Watson, C. (2007) *The rat brain in stereotaxic coordinates*, Academic press. doi: 10.1016/0143-4179(83)90049-5.
- Pearlman, M., Obert, J. y Casey, L. (2017) «The Association Between Artificial Sweeteners and Obesity», *Current Gastroenterology Reports*, 19(12), pp. 1-8. doi: 10.1007/s11894-017-0602-9.
- Pecina, S. (2005) «Hedonic Hot Spot in Nucleus Accumbens Shell: Where Do μ -Opioids Cause Increased Hedonic Impact of Sweetness?», *Journal of Neuroscience*, 25(50), pp. 11777-11786. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2329-05.2005.
- Peciña, S. y Berridge, K. C. (2013) «Dopamine or opioid stimulation of nucleus accumbens similarly amplify cue-triggered "wanting" for reward: Entire core and medial shell mapped as substrates for PIT enhancement», *European Journal of Neuroscience*, 37(9), pp. 1529-1540. doi: 10.1111/ejn.12174.
- Peciña, S., Smith, K. S. y Berridge, K. C. (2006) «Hedonic Hot Spots in the Brain», *The Neuroscientist*, 12(6), pp. 500-511. doi: 10.1177/1073858406293154.
- Pepino, M. Y. (2015) «Metabolic effects of non-nutritive sweeteners», *Physiology and Behavior*. Elsevier Inc., 152, pp. 450-455. doi: 10.1016/j.physbeh.2015.06.024.
- Pepino, M. Y. *et al.* (2013) «Sucralose affects glycemic and hormonal responses to an oral glucose load», *Diabetes Care*, 36(9), pp. 2530-2535. doi: 10.2337/dc12-2221.
- Perrotti, L. I. *et al.* (2008) «Distinct patterns of Δ FosB induction in brain by drugs of abuse», *Synapse*. doi: 10.1002/syn.20500.
- Perry, M. L. *et al.* (2010) «Leptin promotes dopamine transporter and tyrosine hydroxylase activity in the nucleus accumbens of Sprague-Dawley rats», *Journal of Neurochemistry*, 114(3), pp. 666-674. doi: 10.1111/j.1471-4159.2010.06757.x.
- Peters, J. C. *et al.* (2014) «The effects of water and non-nutritive sweetened beverages on weight loss during a 12-week weight loss treatment program», *Obesity*, 22(6), pp. 1415-1421. doi: 10.1002/oby.20737.
- Pfeffer, M., Ziesenitz, S. C. y Siebert, G. (1985) «Acesulfame K, cyclamate and saccharin inhibit the anaerobic fermentation of glucose by intestinal bacteria», *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, 24(4), pp. 231-235. doi: 10.1007/BF02023668.
- Philippaert, K. *et al.* (2017) «Steviol glycosides enhance pancreatic beta-cell function and taste sensation by potentiation of TRPM5 channel activity», *Nature Communications*, 8, p. 14733. doi: 10.1038/ncomms14733.
- Phillipson, O. T. y Griffiths, A. C. (1985) «The topographic order of inputs to nucleus accumbens in the rat», *Neuroscience*, 16(2), pp. 275-296. doi: 10.1016/0306-4522(85)90002-8.
- Pitchers, K. K. *et al.* (2010) « Δ FosB in the nucleus accumbens is critical for reinforcing effects of sexual reward», *Genes, Brain and Behavior*, 9(7), pp. 831-840. doi: 10.1111/j.1601-183X.2010.00621.x.
- Platek, S. M. y Singh, D. (2010) «Optimal Waist-to-Hip Ratios in Women Activate Neural Reward Centers in Men», *PLoS ONE*. Editado por H. Harpending, 5(2), p. e9042. doi: 10.1371/journal.pone.0009042.
- Pothos, E. *et al.* (1991) «Dopamine microdialysis in the nucleus accumbens during acute and chronic morphine, naloxone-precipitated withdrawal and clonidine treatment», *Brain Research*, 566(1-2), pp. 348-350. doi: 10.1016/0006-8993(91)91724-F.
- Prata, C. *et al.* (2017) «Glycosides from Stevia rebaudiana Bertoni Possess Insulin-Mimetic and Antioxidant Activities in Rat Cardiac Fibroblasts», *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, pp. 1-13. doi: 10.1155/2017/3724545.
- Prensa, L., Richard, S. y Parent, A. (2003) «Chemical anatomy of the human ventral striatum and adjacent basal forebrain structures», *Journal of Comparative Neurology*, 460(3), pp. 345-367. doi: 10.1002/cne.10627.
- Purkayastha, S. *et al.* (2016) «Steviol glycosides in purified stevia leaf extract sharing the same metabolic fate», *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. Elsevier Ltd, 77, pp. 125-133. doi: 10.1016/j.yrtph.2016.02.015.



- Quarrat-ul-Ain y Khan, S. A. (2015) «Artificial sweeteners : safe or unsafe ?», *J Pak Med Assoc.*, 65(2), pp. 225-227.
- Quarta, D. *et al.* (2009) «Systemic administration of ghrelin increases extracellular dopamine in the shell but not the core subdivision of the nucleus accumbens», *Neurochemistry International*, 54(2), pp. 89-94. doi: 10.1016/j.neuint.2008.12.006.
- Raben, A. y Vasilaras, T. (2002) «Sucrose compared with artificial sweeteners: Different effects on ad libitum food intake and body weight after 10 wk of supplementation in overweight subjects», *Am J Clin Nutr*, 76(4), pp. 721-729. doi: 10.3945/ajcn.113.081554.1.
- Rada, P., Avena, N. M. y Hoebel, B. G. (2005) «Daily bingeing on sugar repeatedly releases dopamine in the accumbens shell», *Neuroscience*, 134(3), pp. 737-744. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.04.043.
- Ren, X. *et al.* (2010) «Nutrient Selection in the Absence of Taste Receptor Signaling», *Journal of Neuroscience*, 30(23), pp. 8012-8023. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5749-09.2010.
- Richman, A. *et al.* (2005) «Functional genomics uncovers three glucosyltransferases involved in the synthesis of the major sweet glucosides of *Stevia rebaudiana*», *Plant Journal*, 41(1), pp. 56-67. doi: 10.1111/j.1365-313X.2004.02275.x.
- Rideout, H. J. y Parker, L. A. (1996) «Morphine enhancement of sucrose palatability: Analysis by the taste reactivity test», *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 53(3), pp. 731-734. doi: 10.1016/0091-3057(95)02077-2.
- Rizzo, B. *et al.* (2013) «Steviol glycosides modulate glucose transport in different cell types», *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. doi: 10.1155/2013/348169.
- Roberts, A. (2016) «The safety and regulatory process for low calorie sweeteners in the United States», *Physiology & Behavior*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.02.039.
- Roberts, A. y Renwick, A. G. (2008) «Comparative toxicokinetics and metabolism of rebaudioside A, stevioside, and steviol in rats», *Food and Chemical Toxicology*, 46(7 SUPPL.). doi: 10.1016/j.fct.2008.05.006.
- Roberts, M. D. *et al.* (2012) «Dopamine D1 receptor modulation in nucleus accumbens lowers voluntary wheel running in rats bred to run high distances», *Physiology & Behavior*. Elsevier B.V., 105(3), pp. 661-668. doi: 10.1016/j.physbeh.2011.09.024.
- Rogard, M. *et al.* (1993) «The rat nucleus accumbens: two levels of complexity in the distribution of glutamic acid decarboxylase (67 kDa) and preproenkephalin messenger RNA», *Neuroscience Letters*, 155(1), pp. 81-86. doi: 10.1016/0304-3940(93)90678-E.
- Roh, E., Song, D. K. y Kim, M. S. (2016) «Emerging role of the brain in the homeostatic regulation of energy and glucose metabolism», *Experimental and Molecular Medicine*. Nature Publishing Group, 48(3), pp. e216-12. doi: 10.1038/emmm.2016.4.
- Roitman, M. F. (2004) «Dopamine Operates as a Subsecond Modulator of Food Seeking», *Journal of Neuroscience*, 24(6), pp. 1265-1271. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3823-03.2004.
- Rolls, E. T. (2015) «Taste, olfactory, and food reward value processing in the brain», *Progress in Neurobiology*. Elsevier Ltd, 127-128, pp. 64-90. doi: 10.1016/j.pneurobio.2015.03.002.
- Romo-Romo, A. *et al.* (2016) «Effects of the non-nutritive sweeteners on glucose metabolism and appetite regulating hormones: Systematic review of observational prospective studies and clinical Trials», *PLoS ONE*, 11(8), pp. 1-17. doi: 10.1371/journal.pone.0161264.
- Rossi, M. A. *et al.* (2013) «Operant Self-Stimulation of Dopamine Neurons in the Substantia Nigra», *PLoS ONE*, 8(6), pp. 1-7. doi: 10.1371/journal.pone.0065799.
- Rossi, M. A. y Stuber, G. D. (2018) «Overlapping Brain Circuits for Homeostatic and Hedonic Feeding», *Cell Metabolism*. Elsevier Inc., 27(1), pp. 42-56. doi: 10.1016/j.cmet.2017.09.021.
- Rozengurt, N. *et al.* (2006) «Colocalization of the α -subunit of gustducin with PYY and GLP-1 in L cells of human colon», *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 291(5), pp. G792-G802. doi: 10.1152/ajpgi.00074.2006.
- Ruffle, J. K. (2014) «Molecular neurobiology of addiction: What's all the (Δ)FosB about?», *American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, 40(6), pp. 428-437. doi: 10.3109/00952990.2014.933840.
- Sakurai, M. *et al.* (2014) «Sugar-sweetened beverage and diet soda consumption and the 7-year risk for type 2 diabetes mellitus in middle-aged Japanese men», *European Journal of Nutrition*, 53(1), pp. 251-258. doi: 10.1007/s00394-013-0523-9.
- Salgado, S. y Kaplitt, M. G. (2015) «The nucleus accumbens: A comprehensive review», *Stereotactic and Functional Neurosurgery*, 93(2), pp. 75-93. doi: 10.1159/000368279.
- Salud (2012) *Acuerdo por el que se determinan los adictivos y coayuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias*, *Diario Oficial de la Federación*. México. Disponible en: <http://www.cofepriis.gob.mx/MJ/Documents/AcuerdosSecretario/acaditivo160712.pdf> (Accedido: 5 de abril de 2018).



- Sclafani, A. y Nissenbaum, J. W. (1988) «Robust conditioned flavor preference produced by intragastric starch infusions in rats.», *The American journal of physiology*. doi: 10.1152/ajpregu.1988.255.4.R672.
- Sclafani, A. *et al.* (2010) «Stevia and saccharin preferences in rats and mice», *Chemical Senses*, 35(5), pp. 433-443. doi: 10.1093/chemse/bjq033.
- Sesack, S. R. *et al.* (1989) «Topographical Organization of the Efferent Projections of the Medial Prefrontal Cortex in the Rat: An Anterograde Tract-Tracing Study With Phaseolus vulgaris Leucoagglutinin», 242.
- Shankar, P., Ahuja, S. y Sriram, K. (2013) «Non-nutritive sweeteners: Review and update», *Nutrition*. Elsevier Inc., 29(11-12), pp. 1293-1299. doi: 10.1016/j.nut.2013.03.024.
- Shima, K. *et al.* (1990) «Relationship between molecular structures of sugars and their ability to stimulate the release of glucagon-like peptide-1 from canine ileal loops.», *Acta endocrinologica*, 123(4), pp. 464-70. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2239092>.
- Simon, S. A. *et al.* (2006) «The neural mechanisms of gustation: a distributed processing code», *Nature Reviews Neuroscience*, 7(11), pp. 890-901. doi: 10.1038/nrn2006.
- Singh, G. M. *et al.* (2015) «Estimated global, regional, and national disease burdens related to sugar-sweetened beverage consumption in 2010», *Circulation*, 132(8), pp. 639-666. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010636.
- Small, D. M. *et al.* (2001) «Changes in brain activity related to eating chocolate: From pleasure to aversion», *Brain*, 124(9), pp. 1720-1733. doi: 10.1093/brain/124.9.1720.
- Small, D. M. y Scott, T. R. (2009) «Symposium overview: What happens to the pontine processing repercussions of interspecies differences in pontine taste representation for tasting and feeding», *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1170, pp. 343-346. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.03918.x.
- Small, D. M., Jones-Gotman, M. y Dagher, A. (2003) «Feeding-induced dopamine release in dorsal striatum correlates with meal pleasantness ratings in healthy human volunteers», *NeuroImage*, 19(4), pp. 1709-1715. doi: 10.1016/S1053-8119(03)00253-2.
- Smith, R. J. *et al.* (2013) «Cocaine-induced adaptations in D1 and D2 accumbens projection neurons (a dichotomy not necessarily synonymous with direct and indirect pathways)», *Current Opinion in Neurobiology*. Elsevier Ltd, 23(4), pp. 546-552. doi: 10.1016/j.conb.2013.01.026.
- Spangler, R. *et al.* (2004) «Opiate-like effects of sugar on gene expression in reward areas of the rat brain», *Molecular Brain Research*. doi: 10.1016/j.molbrainres.2004.02.013.
- Spear, L. P. (2000) «The adolescent brain and age-related behavioral manifestations», *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24(4), pp. 417-463. doi: 10.1016/S0149-7634(00)00014-2.
- Steinert, R. E. *et al.* (2011) «Effects of carbohydrate sugars and artificial sweeteners on appetite and the secretion of gastrointestinal satiety peptides», *British Journal of Nutrition*, 105(9), pp. 1320-1328. doi: 10.1017/S000711451000512X.
- Stice, E. *et al.* (2008) «Relation of reward from food intake and anticipated food intake to obesity: A functional magnetic resonance imaging study.», *Journal of Abnormal Psychology*, 117(4), pp. 924-935. doi: 10.1037/a0013600.
- Stice, E., Burger, K. S. y Yokum, S. (2013) «Relative ability of fat and sugar tastes to activate reward, gustatory, and somatosensory regions 1-3», *American Journal of Clinical Nutrition*, 98(6), pp. 1377-1384. doi: 10.3945/ajcn.113.069443.
- Stuber, G. D. *et al.* (2005) «Rapid dopamine signaling in the nucleus accumbens during contingent and noncontingent cocaine administration», *Neuropsychopharmacology*, 30(5), pp. 853-863. doi: 10.1038/sj.npp.1300619.
- Suez, J. *et al.* (2014) «Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota», *Nature*, 514(7521), pp. 181-186. doi: 10.1038/nature13793.
- Suzuki, K., Jayasena, C. N. y Bloom, S. R. (2012) «Obesity and Appetite Control», *Experimental Diabetes Research*, 2012, pp. 1-19. doi: 10.1155/2012/824305.
- Swithers, S. E. (2013) «Artificial sweeteners produce the counterintuitive effect of inducing metabolic derangements», *Trends in Endocrinology and Metabolism*. Elsevier Ltd, 24(9), pp. 431-441. doi: 10.1016/j.tem.2013.05.005.
- Swithers, S. E., Baker, C. R. y Davidson, T. L. (2009) «General and persistent effects of high-intensity sweeteners on body weight gain and caloric compensation in rats.», *Behavioral Neuroscience*, 123(4), pp. 772-780. doi: 10.1037/a0016139.
- Swithers, S. E., Martin, A. A. y Davidson, T. L. (2010) «High-intensity sweeteners and energy balance», *Physiology & Behavior*, 100(1), pp. 55-62. doi: 10.1016/j.physbeh.2009.12.021.
- Sylvetsky, A. y Rother, K. (2016) «Trends in the consumption of low-calorie sweeteners», *Physiology & Behavior*, 1(2015), pp. 1-17. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.03.030.



Tanda, G. y Di Chiara, G. (1998) «A dopamine- μ 1 opioid link in the rat ventral tegmentum shared by palatable food (Fonzies) and non-psychostimulant drugs of abuse», *European Journal of Neuroscience*, 10(3), pp. 1179-1187. doi: 10.1046/j.1460-9568.1998.00135.x.

Te Morenga, L., Mallard, S. y Mann, J. (2012) «Dietary sugars and body weight: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials and cohort studies», *BMJ*, 346, p. e7492. doi: 10.1136/bmj.e7492.

Teegarden, S. L., Nestler, E. J. y Bale, T. L. (2008) « Δ FosB-Mediated Alterations in Dopamine Signaling Are Normalized by a Palatable High-Fat Diet», *Biological Psychiatry*. Society of Biological Psychiatry, 64(11), pp. 941-950. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.06.007.

Temussi, P. (2007) «The Sweet Taste Receptor: A Single Receptor with Multiple Sites and Modes of Interaction», *Advances in Food and Nutrition Research*, 53(07), pp. 199-239. doi: 10.1016/S1043-4526(07)53006-8.

Tepper, J. M. y Bolam, J. P. (2004) «Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons», *Current Opinion in Neurobiology*, 14(6), pp. 685-692. doi: 10.1016/j.conb.2004.10.003.

Touzani, K., Bodnar, R. y Sclafani, A. (2008) «Activation of dopamine D1-like receptors in nucleus accumbens is critical for the acquisition, but not the expression, of nutrient-conditioned flavor preferences in rats», *European Journal of Neuroscience*, 27(6), pp. 1525-1533. doi: 10.1111/j.1460-9568.2008.06127.x.

Tripathi, A., Prensa, L. y Mengual, E. (2013) «Axonal branching patterns of ventral pallidal neurons in the rat», *Brain Structure and Function*, 218(5), pp. 1133-1157. doi: 10.1007/s00429-012-0451-0.

Tuulari, J. J. et al. (2017) «Feeding releases endogenous opioids in humans», *The Journal of Neuroscience*, pp. 0976-17. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0976-17.2017.

USFDA (2018) *Food Additives & Ingredients - Additional Information about High-Intensity Sweeteners Permitted for Use in Food in the United States*. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Disponible en: <https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/ucm397725.htm#SummaryTable> (Accedido: 5 de abril de 2018).

Usuda, I., Tanaka, K. y Chiba, T. (1998) «Efferent projections of the nucleus accumbens in the rat with special reference to subdivision of the nucleus: biotinylated dextran amine study», *Brain Research*, 797(1), pp. 73-93. doi: 10.1016/S0006-8993(98)00359-X.

Van Bockstaele, E. J. y Pickel, V. M. (1995) «GABA-containing neurons in the ventral tegmental area project to the nucleus accumbens in rat brain», *Brain Research*, 682(1-2), pp. 215-221. doi: 10.1016/0006-8993(95)00334-M.

Van Zessen, R. et al. (2012) «Activation of VTA GABA Neurons Disrupts Reward Consumption», *Neuron*. Elsevier Inc., 73(6), pp. 1184-1194. doi: 10.1016/j.neuron.2012.02.016.

Vanhille, N. et al. (2015) «High Locomotor Reactivity to Novelty Is Associated with an Increased Propensity to Choose Saccharin Over Cocaine: New Insights into the Vulnerability to Addiction», *Neuropsychopharmacology*. Nature Publishing Group, 40(3), pp. 577-589. doi: 10.1038/npp.2014.204.

Venebra-Munoz, A. et al. (2014) «Enriched environment attenuates nicotine self-administration and induces changes in DeltaFosB expression in the rat prefrontal cortex and nucleus accumbens», *Neuroreport*, 25(9), pp. 688-692. doi: 10.1097/WNR.0000000000000157.

Venebra-Muñoz, A. et al. (2014) «Enriched environment attenuates nicotine self-administration and induces changes in DeltaFosB expression in the rat prefrontal cortex and nucleus accumbens», *Neuroreport*, 25(9), pp.688-692. Doi: 10.1097/WNR.0000000000000157.

Vialou, V. et al. (2011) «A role for Δ fosB in calorie restriction-induced metabolic changes», *Biological Psychiatry*, 70(2), pp. 204-207. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.11.027.

Volkow, N. D. y O'Brien, C. P. (2007) «Issues for DSM-V: Should obesity be included as a brain disorder?», *American Journal of Psychiatry*, pp. 708-710. doi: 10.1176/ajp.2007.164.5.708.

von Rymon Lipinski, G. W. (1985) «The new intense sweetener Acesulfame K», *Food Chemistry*, 16(3-4), pp. 259-269. doi: 10.1016/0308-8146(85)90120-7.

Voorn, P., Gerfen, C. R. y Groenewegen, H. J. (1989) «Compartmental organization of the ventral striatum of the rat: Immunohistochemical distribution of enkephalin, substance P, dopamine, and calcium-binding protein», *The Journal of Comparative Neurology*, 289(2), pp. 189-201. doi: 10.1002/cne.902890202.

Wall, N. R. et al. (2013) «Differential innervation of direct- and indirect-pathway striatal projection neurons», *Neuron*. Elsevier Inc., 79(2), pp. 347-360. doi: 10.1016/j.neuron.2013.05.014.

Wallace, D. L. et al. (2008) «The Influence of Δ FosB in the Nucleus Accumbens on Natural Reward-Related Behavior», *The*



- Journal of Neuroscience*, 28(41), pp. 10272-10277. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1531-08.2008.THE.
- Wang, D. *et al.* (2015) «Whole-brain mapping of the direct inputs and axonal projections of POMC and AgRP neurons», *Frontiers in Neuroanatomy*, 9(40). doi: 10.3389/fnana.2015.00040.
- Wang, Z. *et al.* (2006) «Dopaminergic Control of Corticostriatal Long-Term Synaptic Depression in Medium Spiny Neurons Is Mediated by Cholinergic Interneurons», *Neuron*, 50(3), pp. 443-452. doi: 10.1016/j.neuron.2006.04.010.
- Welsh, J. A. *et al.* (2011) «Consumption of added sugars and indicators of cardiovascular disease risk among US adolescents», *Circulation*, 123(3), pp. 249-257. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.972166.
- Werme, M. *et al.* (2002) «Delta FosB regulates wheel running.», *The Journal of Neuroscience*. doi: 22/18/8133 [pii].
- Wheeler, A. *et al.* (2008) «Pharmacokinetics of rebaudioside A and stevioside after single oral doses in healthy men», *Food and Chemical Toxicology*, 46(7 SUPPL.). doi: 10.1016/j.fct.2008.04.041.
- Wheeler, R. A. *et al.* (2011) «Cocaine cues drive opposing context-dependent shifts in reward processing and emotional state», *Biological Psychiatry*, 69(11), pp. 1067-1074. doi: 10.1016/j.biopsych.2011.02.014.
- Wilmouth, C. E. y Spear, L. P. (2009) «Hedonic sensitivity in adolescent and adult rats: Taste reactivity and voluntary sucrose consumption», *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. Elsevier B.V., 92(4), pp. 566-573. doi: 10.1016/j.pbb.2009.02.009.
- Wingard, R. E. *et al.* (1980) «Intestinal degradation and absorption of the glycosidic sweeteners stevioside and rebaudioside A», *Experientia*, 36(5), pp. 519-520. doi: 10.1007/BF01965774.
- Wise, R. A. *et al.* (1995) «Fluctuations in nucleus accumbens dopamine concentration during intravenous cocaine self-administration in rats», *Psychopharmacology*, 120(1), p. 10-20. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?db=m&form=6&dopt=r&uid=7480530>.
- Wölwer-Rieck, U. (2012) «The leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni), their constituents and the analyses thereof: A review», *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp. 886-895. doi: 10.1021/jf2044907.
- Wright, C., Beijer, A. y Groenewegen, H. (1996) «Basal amygdaloid complex afferents to the rat nucleus accumbens are compartmentally organized», *The Journal of Neuroscience*, 16(5), pp. 1877-1893. doi: 10.1523/JNEUROSCI.16-05-01877.1996.
- Wu, T. *et al.* (2012) «Effects of different sweet preloads on incretin hormone secretion, gastric emptying, and postprandial glycemia in healthy humans», *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(1), pp. 78-83. doi: 10.3945/ajcn.111.021543.
- Wyvell, C. L. y Berridge, K. C. (2001) «Incentive sensitization by previous amphetamine exposure: increased cue-triggered "wanting" for sucrose reward.», *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(19), pp. 7831-40. doi: 21/19/7831 [pii].
- Xu, J. *et al.* (2003) «A genomic view of the human-Bacteroides thetaiotaomicron symbiosis», *Science*, 299(5615), pp. 2074-2076. doi: 10.1126/science.1080029.
- Yager, L. M. *et al.* (2015) «The ins and outs of the striatum: Role in drug addiction», *Neuroscience*. IBRO, 301(June), pp. 529-541. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.033.
- Yalamanchi, S., Srinath, R. y Dobs, A. (2016) «Acesulfame-K», en *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, pp. 1-5. doi: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00001-5.
- Yamamoto, T., Sako, N. y Maeda, S. (2000) «Effects of taste stimulation on β -endorphin levels in rat cerebrospinal fluid and plasma», *Physiology and Behavior*, 69(3), pp. 345-350. doi: 10.1016/S0031-9384(99)00252-8.
- Yang, Q. (2010) «Gain weight by "going diet?" Artificial sweeteners and the neurobiology of sugar cravings: Neuroscience 2010», *Yale Journal of Biology and Medicine*, 83(2), pp. 101-108. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.876185.Sugar.
- Yarmolinsky, D. A., Zuker, C. S. y Ryba, N. J. P. (2009) «Common Sense about Taste: From Mammals to Insects», *Cell*, 139(2), pp. 234-244. doi: 10.1016/j.cell.2009.10.001.
- Yin, H. H. *et al.* (2009) «Dynamic reorganization of striatal circuits during the acquisition and consolidation of a skill», *Nature Neuroscience*, 12(3), pp. 333-341. doi: 10.1038/nn.2261.
- Yin, H. H., Knowlton, B. J. y Balleine, B. W. (2005) «Blockade of NMDA receptors in the dorsomedial striatum prevents action-outcome learning in instrumental conditioning», *European Journal of Neuroscience*, 22(2), pp. 505-512. doi: 10.1111/j.1460-9568.2005.04219.x.
- Yin, H. H., Ostlund, S. B. y Balleine, B. W. (2008) «Reward-guided learning beyond dopamine in the nucleus accumbens: the integrative functions of cortico-basal ganglia networks», *European Journal of Neuroscience*, 28(8), pp. 1437-1448. doi: 10.1111/j.1460-9568.2008.06422.x.



Zachariou, V. *et al.* (2006) «An essential role for Δ FosB in the nucleus accumbens in morphine action», *Nature Neuroscience*, 9(2), pp. 205-211. doi: 10.1038/nn1636.

Zahm, D. S. y Heimer, L. (1990) «Two transpallidal pathways originating in the rat nucleus accumbens», *The Journal of Comparative Neurology*, 302(3), pp. 437-446. doi: 10.1002/cne.903020302.

Zhan, C. *et al.* (2013) «Acute and Long-Term Suppression of Feeding Behavior by POMC Neurons in the Brainstem and Hypothalamus, Respectively», *Journal of Neuroscience*, 33(8), pp. 3624-3632. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2742-12.2013.

Zhang, T. *et al.* (2018) «Activation of GABAergic Neurons in the Nucleus Accumbens Mediates the Expression of Cocaine-Associated Memory», *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 41(7), pp. 1084-1088. doi: 10.1248/bpb.b18-00221.

Zhou, L., Furuta, T. y Kaneko, T. (2003) «Chemical organization of projection neurons in the rat accumbens nucleus and olfactory tubercle», *Neuroscience*, 120(3), pp. 783-798. doi: 10.1016/S0306-4522(03)00326-9.

