

[Escriba aquí]



BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS DEPARTAMENTO DE QUIMICA GENERAL TESIS DE LICENCIATURA

**Alteraciones Químico-clínico plasmáticas que
ocasiona el consumo y abuso de bebidas energizantes,
alcohol y su combinación.**

Tesis presentada para obtener el título de:
Licenciado en Químico Farmacobiologo

Presenta:

p.Q.F.B. Jaquelin Solis León

Director:

Dr. Albino Moreno- Rodríguez

Asesores

**Dr. Ulises Peña Rosas
Dra. Guadalupe Muñoz Arenas**

Mayo-2016
Puebla, Pué.

Agradecimientos:

Quiero agradecer especialmente:

A Dios. Por darme la bendición de una familia y no cualquier familia sino por darme a la familia que tengo, por mostrarme siempre lo maravilloso de la vida.

A mi familia. Los cuales siempre me han apoyado a pesar de los errores, alegrías y tristezas, me han enseñado que no basta con intentarlo, sino que para lograr las cosas no hay más que esforzarse y dar lo mejor de uno mismo, las veces necesarias hasta llegar a nuestra meta.

A mí amada hija, Diana. Quien con sus travesuras me ha hecho pasar del mayor enojo a una carcajada, y quien me da el aliento para seguir adelante.

A mi director de tesis. Por su apoyo y su paciencia para concluir este proyecto.

[Escriba aquí]

INDICE

1.0 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. BEBIDA ENERGIZANTE	1
1.1.1. Definición.....	1
1.1.2. Composición de las bebidas energizantes.....	2
1.1.3. Impacto social de las bebidas energizantes.....	5
1.1.4. Efectos tóxicos de las bebidas energizantes	6
1.2. ALCOHOL.....	9
1.2.1. Definición.....	9
1.2.2. Impacto social del alcohol.....	10
1.2.3. Alcohol en el organismo.....	11
1.2.4. Efectos tóxicos del alcohol.....	13
1.3 Efectos de las bebidas energizantes en combinación con alcohol.....	16
2.0 JUSTIFICACIÓN.....	18
3.0 OBJETIVOS.....	19
3.1.1. Objetivo general.....	19
3.1.2. Objetivos particulares.....	19
4.0 METODOLOGIA DE TRABAJO	20
5.0 DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	21
6.0 PROTOCOLO PARA DETERMINACION DE LABORATORIO	22
7.0 DESARROLLO DE LAS PRUEBAS	23
8.0 ANALISIS ESTADISTICO.....	33
9.0 RESULTADOS	34
9.1 Marcadores químico-clínicos plasmáticos hepáticos.....	34
9.2 Marcadores químico-clínicos plasmáticos renal.....	39
9.3 Marcadores químico-clínicos plasmáticos pancreáticas.....	43
10.0 DISCUSIÓN DE RESULTADOS	50
11.0 CONCLUSIONES.....	53
12.0 PERSPECTIVAS.....	54
13.0 BIBLIOGRAFÍA	55

1.0 INTRODUCCIÓN

Cada vez es más común el consumo de bebidas alcohólicas en fiestas o si celebra algún acontecimiento. En los últimos tiempos se ha puesto muy de moda mezclar el alcohol con las bebidas energizantes, ya que el efecto que se consigue es muy diferente al resultante de la mezcla con cualquier refresco.

Esta práctica cada parece ser una buena forma de aguantar más las horas de diversión. Pero las voces de alarma al respecto se han alzado, ya que cada vez es más frecuente la hospitalización por el consumo de bebidas energizantes mezcladas con alcohol, pues, desconocen sino todos al menos la mayoría que la combinación de dos bebidas tan dispares puede traernos algún que otro problema.

1.1 BEBIDA ENERGIZANTE:

1.1.1 Definición:

Las bebidas energizantes son bebidas analcohólica y con algunas virtudes estimulantes que desde hace más de una década han salido al mercado mundial ofreciendo al consumidor supuestas virtudes regeneradoras de la fatiga y el agotamiento, además de aumentar la habilidad mental y desintoxicar el cuerpo. (1,3,14)

Numerosos productos continúan surgiendo desde entonces y hoy se han popularizado en el mundo entero.

Poseen propiedades de refuerzo, entendidas como la capacidad de producir efectos que despiertan en el que las utiliza el deseo imperioso de consumirlas otra vez, en la búsqueda de efectos similares; han sido llamadas “sustancias psicoactivas”, las cuales sirven para cambiar o modificar la percepción de la realidad, una o varias funciones psíquicas, pudiendo inducir a las personas que las toman a repetir su autoadministración por el placer que generan. Las sustancias psicoactivas modifican la síntesis, la degradación, o la liberación de neurotransmisores y neuropéptidos cerebrales. Son sustancias químicamente muy diversas, que se unen a distintos sitios iniciales en el cerebro y la periferia, generando una combinación diferente de efectos fisiológicos y conductuales luego de su administración. El abuso de este tipo de

sustancias constituye actualmente uno de los mayores problemas de la salud pública siendo también un fenómeno social complejo. (2).

Parte de la sensación de bienestar producida por las bebidas energéticas es a causa de un efecto energético que se produce por la acción de sustancias psicoactivas (siendo la cafeína, un alcaloide, uno de los ingredientes en estas bebidas) que actúan sobre el sistema nervioso central, inhibiendo los neurotransmisores encargados de transmitir las sensaciones de cansancio, sueño, etc., y potenciando aquellos relacionados con las sensaciones de bienestar y la concentración. Si bien estas bebidas incluyen en su composición glucosa y otros azúcares que proporcionan energía al cuerpo (excepto las versiones dietéticas), no eliminan realmente la fatiga muscular ni el agotamiento en general, solamente inhibe temporalmente estas sensaciones, por lo tanto es normal una sensación de decaimiento una vez que acaba su efecto en el organismo.

Para algunos organismos científicos e investigadores deberían llamarse “estimulantes” y no energizantes, ya que una bebida energizante es aquella que se utiliza para aportar un alto nivel de energía al cuerpo, especialmente a expensas de los glúcidos que contiene. El concepto de energía es más amplio que el que se desprende sólo del valor calórico aportado por los hidratos de carbono. La energía está dada por las calorías aportadas, más la vitalidad que proporcionan al organismo sus otros componentes a través de acciones diversas, sobre todo en situaciones de desgaste físico y/o mental, experimentadas ante un trabajo excesivo, concentración, estado de alerta, vigilia, etc(3)

1.1.2 Composición de las bebidas energizantes:

Las Bebidas Energéticas están compuestas principalmente por cafeína, varias vitaminas, y otras sustancias naturales orgánicas como la taurina, que eliminan la sensación de agotamiento de la persona que las consume. Actualmente se emplean para resistir noches y días enteros bailando en los llamados "after party" (después de la fiesta). (1)

Dentro de los hidratos de carbonos, los que se utilizan más comúnmente son: sacarosa, glucosa, glucuronolactona y fructosa, en forma individual o combinados.

Como aminoácidos, el más frecuente es la taurina; mientras que, dentro de las vitaminas se encuentran las del grupo B, especialmente B1, B2, B6 y B12. Puede adicionarse también vitamina C.

1.1.2.1 Cafeína

La cafeína, principal ingrediente psicoactivo de las bebidas energéticas, es un antagonista no selectivo de los receptores de adenosina, un neuromodulador del Sistema Nervioso Central (SNC) y periférico. La adenosina tiene múltiples efectos sobre el SNC: modulación de la actividad locomotora, efectos hipnóticos y ansiolíticos entre otros (Deckert et al., 1998; Correa y Font 2008).

En su estado puro es un polvo blanco muy amargo. Su fórmula química es $C_8H_{10}N_4O_2$ y su nombre sistemático es 1,3,7-trimetilxantina. Se metaboliza en el hígado y los primeros productos son las dimetilxantinas (FIG 1). La cafeína, por ejemplo, logra aumentar los niveles extracelulares de los neurotransmisores noradrenalina y dopamina en la corteza prefrontal del cerebro, lo que explica buena parte de sus efectos favorables sobre la concentración.(3) Por contener altas dosis de cafeína pueden producir dependencia.

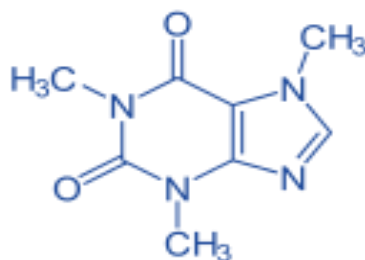


FIG. 1 ESTRUCTURA DE LA CAFEINA

La cafeína estimula la secreción de saliva y de los jugos gástricos, favoreciendo la digestión. El consumo en cantidades muy grandes puede provocar una intoxicación. Sus síntomas son: insomnio, nerviosismo, excitación, cara rojiza, aumento de la diuresis y problemas gastrointestinales. La molécula de cafeína es estructuralmente similar a la adenosina (FIG. 2) y por lo tanto se une a los receptores de adenosina en la superficie de las células sin activarlos (un mecanismo de acción "antagonista"). La reducción en la actividad de la adenosina aumenta los niveles de dopamina, epinefrina y serotonina lo cual se asocia con los efectos positivos sobre el ánimo (10, 16,17)

Entonces, tenemos que la cafeína actúa como un inhibidor competitivo.

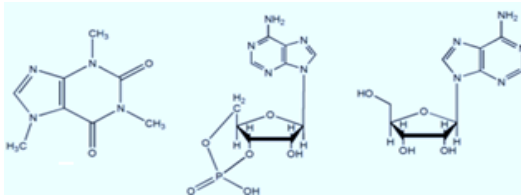


FIG 2. MOLECULAS: CAFEINA (IZQ), AMPc (CENTRO) Y ADENOSINA(DER).

1.1.2.2 Glucuronolactona

La D-glucurono- γ -lactona es la γ -lactona del D-ácido glucurónico; esto es el producto de la oxidación del grupo -OH de la D-glucosa. Su fórmula molecular es $C_6H_8O_6$ (FIG. 3), y son cristales incoloros fácilmente solubles en agua. La glucuronolactona es un carbohidrato derivado de la glucosa, es un intermediario en su metabolismo en el hombre, también se encuentra en la savia de muchas plantas. Está involucrada en varios caminos metabólicos en los mamíferos, que están localizados en el hígado. En los humanos, la glucuronolactona es un intermediario en tres caminos metabólicos. El ácido glucurónico, el precursor metabólico inmediato de la glucuronolactona, es esencial para la detoxificación y el metabolismo, mediante conjugación en el hígado, de una amplia variedad de sustancias que finalmente se eliminan por la orina. La ingesta de D-glucuronolactona, aparte de ser metabolizada y eliminada como ácido glucárido, L-xilulosa y xilitol, también puede ser convertida a ácido D-glucurónico y así ayudar al proceso de glucuronización.(4,13)

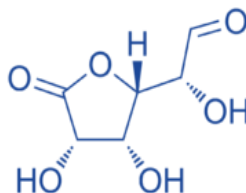


FIG. 3 ESTRUCTURA DE LA GLUCORONOLACTONA

1.1.2.3 Taurina

Su nombre químico es ácido 2-aminoetanosulfónico. Es diferente de los otros aminoácidos, ya que contiene un grupo ácido sulfónico, en lugar de un grupo ácido carboxílico. Generalmente se la clasifica como un aminoácido condicionante en adultos, basado en la evidencia que indica que, frente a un estrés severo, tal como ejercicio físico riguroso, disminuye su reserva física. Se encuentra en los tejidos de muchas especies de animales en estado libre, pero no está formando la estructura de las proteínas. La taurina está involucrada en varios procesos fisiológicos, como ser

síntesis de ácidos biliares, osmoregulación, desintoxicación de xenobióticos, estabilización de membranas celulares, modulación del flujo celular del calcio y modulación de la excitabilidad neuronal. (2, 3, 4)

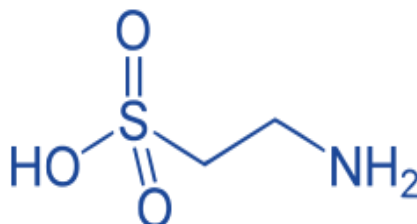


FIG. 4 ESTRUCTURA DE LA TAURINA

1.1.3 Impacto social de las bebidas energizantes:

Las bebidas energizantes han inundado el mercado desde hace algunos años, dirigiendo su propaganda hacia la gente joven, principalmente a estudiantes y deportistas, con la promesa de incrementar su resistencia física, proveer reacciones más veloces, mayor concentración, aumentar el estado de alerta mental y evitar el sueño. Se promocionan sus efectos positivos como elixir para revitalizar cuerpo y mente y, mediante una masiva campaña de marketing se propone al gran público su consumo como sustancia útil para estudiar, incrementar la resistencia física, mejorar la atención, la concentración y la vigilancia. .

La sustancia estrella aquí es la cafeína, pero sin dejar a un lado algunos tan importantes como la taurina y la glucuronolactona (Revista del consumidor, Marzo 2011). De acuerdo con la Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria, el límite máximo de cafeína recomendado para un adulto es de 300 mg al día, lo que se cubriría, por ejemplo, con cuatro latas de Red Bull, pero sin tomar en cuenta otras fuentes de cafeína.

1.1.3.1 Riegos para la salud por bebidas energizantes:

De acuerdo con la COFEPRIS, institución encargada de proteger contra riesgos sanitarios a la población en México, el problema de combinar bebidas energéticas con alcohol es que estas enmascaran los efectos depresores, pero el nivel de alcohol en el cuerpo y sus efectos nocivos no se reducen de ninguna manera, por ejemplo, la falta de reflejos causada por ingesta alcohólica permanece aunque el consumidor tenga una

percepción distinta. “Mezclar las bebidas energizantes y alcohol puede llevar fácilmente a una intoxicación por una ingesta excesiva y por lo tanto a una situación de riesgo puede provocar ansiedad, insomnio, trastornos del ritmo cardiaco e incluso intoxicación por ingesta excesiva”, advirtió en diciembre 2010 pasado la dependencia en un comunicado.

Sobre este punto hay dos consideraciones básicas a tener en cuenta, para no desviar el foco de la discusión: el exceso de alcohol es nocivo por sí mismo y también que la ley prohíbe vender alcohol a menores de 18 años.

1.1.4 Efectos tóxicos de las bebidas energizantes.

Los efectos secundarios pueden ir desde intoxicación, taquicardia, dolor de cabeza, vomito, hipertensión arterial, dilatación de las pupilas, hasta la muerte, máxime si quien lo consume es menor de edad. Pero a largo plazo los efectos tóxicos dañan el sistema renal, hepático y aumenta la probabilidad de resistencia a la insulina.

1.1.4.1 Daño a los riñones:

Cuando hay una vasoconstricción severa, órganos como los riñones, ven disminuida la cantidad de sangre que llega hasta ellos, lo que a largo plazo provoca que haya un daño renal intenso, en el que nutrientes y electrolitos son desechados por el organismo, lo que provoca una desestabilización de la presión arterial.

1.1.4.2 CAFEINA

Renal: las metilxantinas causan vasodilatación de la arteriola aferente del glomérulo renal, lo que aumenta el flujo sanguíneo al riñón e incrementa la tasa de filtración glomerular, acciones relacionadas con el efecto diurético que producen estas sustancias (9). El aumento de la diuresis contribuye al desarrollo de hipokalemia que puede predisponer a la presentación de arritmias cardíacas.

Metabólico: por acción de la estimulación β -adrenérgica puede producirse hipokalemia, por estimulación de la bomba Na^+/K^+ ATPasa que resulta en el paso de K^+ sérico al compartimiento intracelular o al músculo esquelético. Pueden producirse otras alteraciones hidroelectrolíticas como hipofosfatemia, hipomagnesemia, hiper e

hipocalcemia; que usualmente no tienen importancia clínica. Se han reportado casos de hiperglicemia e hipertermia. Por último, puede encontrarse leucocitosis probablemente secundaria a los elevados niveles de catecolaminas circulantes.

Páncreas: la adrenalina tiene un efecto dual: cuando activa los receptores β incrementa su liberación de la insulina pero si activa los receptores α disminuye la liberación de la insulina. Además de que también la adrenalina favorece a la lipólisis y la producción de ácidos grasos, ya que activa a la triglicérido-lipasa.

Efectos producidos con el uso crónico

Teniendo en cuenta que la cafeína es un diurético, no se recomienda tomar bebidas con este componente durante el ejercicio por que potencia la pérdida de fluidos aumentando la posibilidad de deshidratación, sobre todo en los niños, que son más sensibles a los efectos fisiológicos de la cafeína que los adultos. De manera que es importante establecer la diferencia entre bebidas hidratantes y energizantes, ya que las bebidas hidratantes se crearon con la idea de restaurar el balance electrolítico durante el ejercicio, mientras que las energizantes no tienen esta característica.

1.1.4.3 GUARANA

Metabólico: incremento de la glucosa postprandial y de las concentraciones de insulina debido probablemente a la inhibición de la recaptación de glucosa inducida por catecolaminas que se realiza en los adipocitos y miocitos. Esto, lleva a aumentar la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico. Incrementa la liberación de ácidos grasos, aumentando la producción de LDL y predisponiendo a esteatosis hepática. Incrementa el consumo de oxígeno y la tasa metabólica basal, disminuye los niveles de K sérico, lo que predispone arritmias cardíacas. Por lo anterior, no se recomienda en individuos con hipertensión arterial, enfermedad coronaria, obesidad e intolerancia a los carbohidratos. En cuanto a la pérdida de peso, se ha evidenciado que este efecto puede lograrse por la capacidad anorexígena del guaraná.

1.1.4.4 TAURINA

Es un aminoácido aislado por primera vez en 1827 de la bilis de buey dónde se encuentra en altas concentraciones, esta conexión con el bovino cuyo nombre proviene de la raíz latina “bos tauros” explica su denominación. Su nombre químico es ácido 2-aminoetanosulfónico. La taurina es esencial para un desarrollo embrionario adecuado, actúa como modulador del potencial de membrana y a nivel de las vías visuales. Sin embargo, su consumo como parte de productos artificiales se ha asociado con alteraciones en la función renal por mecanismos aún incomprendidos.

Mecanismo de acción. Tiene efectos en la neuromodulación, la migración neuronal, la regulación del volumen celular y la osmolaridad. Todo lo anterior por mecanismos no bien comprendidos. Actúa en receptores GABAA, GABAB y glicina, con gran afinidad por el receptor de Glicina. Es así como causa una activación tónica de los receptores de glicina aumentando el flujo de cloro lo que crea una corriente inhibitoria y mantiene a la célula en un estado de hiperpolarización. Tiene acción sobre las neuronas del núcleo supraóptico e inhibe la liberación de hormona antidiurética (ADH), lo que resulta en un efecto diurético. Se cree que es esencial en el funcionamiento de las vías visuales, el cerebro y el sistema cardiovascular. Participa en la conjugación de ácidos biliares. Facilita el paso de sodio, potasio, magnesio y calcio dentro o fuera de la célula; para estabilizar eléctricamente la membrana celular. (3,18)

Entre los efectos adversos encontrados con el consumo de taurina se encuentran enfermedad renal como síndrome nefrótico y alteración de la síntesis hepática de fosfatidilcolina. Estudios en animales en in vitro han demostrado mecanismos por los que la taurina podría mejorar el perfil lipídico, disminuir la presión arterial y actuar como un agente antioxidante y antiinflamatorio, sugiriendo su utilidad en la enfermedad cardiovascular.

1.2 ALCOHOL “Droga legal socialmente aceptada”

1.2.1 Definición:

El alcohol etílico también conocido como etanol (FIG. 5), alcohol vínico y alcohol de melazas, es un líquido incoloro y volátil de olor agradable, que puede ser obtenido por dos métodos principales: la fermentación de las azúcares y un método sintético a partir del etileno. La fermentación de las azúcares, es el proceso más común para su obtención a partir de macerados de granos, jugos de frutas, miel, leche, papas o melazas, utilizando levaduras que contienen enzimas catalizadoras que transforman los azúcares complejos a sencillos y a continuación en alcohol y dióxido de carbono. El etanol es un ingrediente intoxicante que se encuentra en la cerveza, el vino y el licor etc. Es un depresor del sistema nervioso central que se absorbe rápidamente en el estómago y el intestino delgado al torrente sanguíneo,

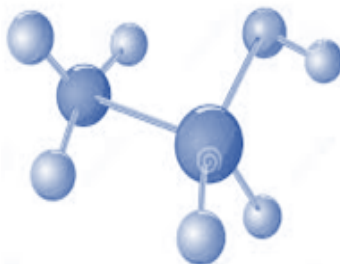


FIG. 5. FORMULA ESTRUCTURAL DE LA MOLECULA DE ETANOL.(Tomado de Wade, Organic Chemistry, 6ªEd.Pearson International, 2005).

Dependiendo del género de bebida alcohólica que lo contenga, el etanol aparece acompañado de distintas sustancias químicas que la dotan de color, sabor, y olor, entre otras características. El etanol actúa sobre los receptores GABA de tipo A (GABA_A) como modulador alostérico positivo aumentando el flujo de iones transmembrana lo que induce a un estado de inhibición neuroquímica (efecto ralentizador). Produce efectos similares a las benzodiazepinas y los barbitúricos, que actúan sobre el mismo receptor aunque en sitios distintos. Esta semejanza incluye el potencial adictivo, que también es similar.

1.2.2 Impacto social del alcohol

A partir de que el Alcoholismo fue declarado por la OMS como "Una enfermedad incurable, progresiva y mortal por consecuencia" a mediados del siglo pasado, ha quedado completamente claro que, como tal, puede manifestarse en cualquier persona, sin importar edad, sexo, religión o posición socioeconómica; que finalmente habrá de llevar a la muerte a quien la padece.

Es la droga legal de más alto consumo y cuenta con un mayor número de adictos, debido a que las bebidas que lo contienen gozan de gran aceptación social y su consumo se encuentra muy arraigado en nuestra cultura. Se estima que cerca del 40 % de la población mundial (aproximadamente 2600 millones de personas) consumen en forma ocasional, abusiva o adictiva etanol, este consumo es aproximadamente 15 veces mayor que el consumo de todas las sustancias ilegales juntas (6).

1.2.2.3 Efectos

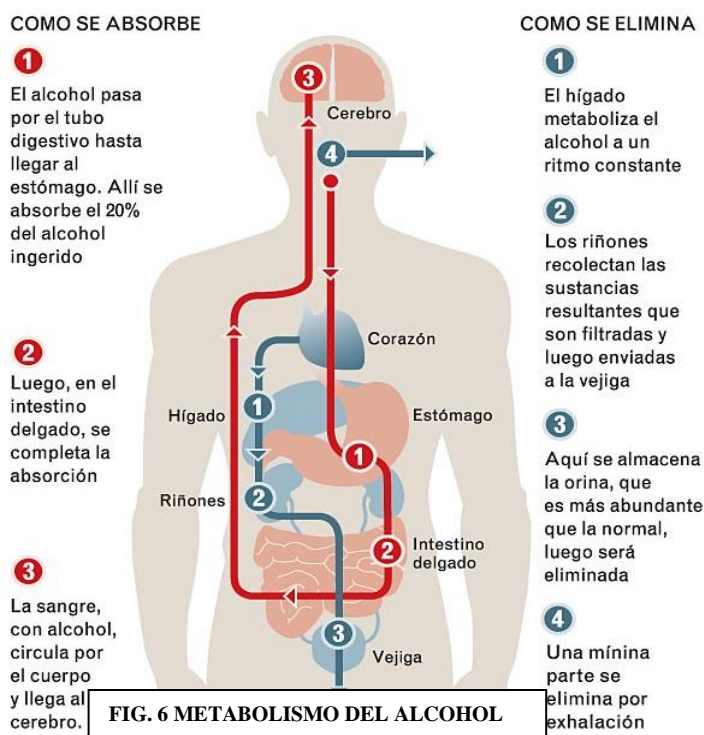
El alcoholismo crónico representa un grave peligro para el hombre. El consumo frecuente de alcohol puede ocasionar daño hepático, alteraciones en los sistemas nervioso e inmunológico, así como un comportamiento social inapropiado en el individuo. En las últimas décadas se ha producido un incremento en el consumo de alcohol por parte de menores de edad, sobre todo adolescentes; y lo que es más preocupante, el número de grandes bebedores ha alcanzado cifras elevadas en esta población. El consumo de alcohol es aceptado socialmente; sin embargo, tiene consecuencias físicas, familiares y sociales muy importantes. El consumo de bebidas alcohólicas en exceso se transformó en "normalidad" en la adolescencia y en grupos de adultos jóvenes, donde el objetivo en muchos casos es "perder el control" para lo que es "necesario" intoxicarse. Y además en estos grupos, "no beber" significa quedar fuera, ser excluido del grupo.

El alcohol afecta a todos los órganos del cuerpo del bebedor. y puede dañar un feto en desarrollo. La intoxicación afecta la función cerebral y las habilidades motoras; el uso intenso puede aumentar el riesgo de ciertos tipos de cáncer, ataques al cerebro y

enfermedades del hígado y riñones. El alcoholismo o la dependencia del alcohol es una enfermedad que se puede diagnosticar, y que se caracteriza por un deseo fuerte por el alcohol y su uso continuado a pesar de las consecuencias nocivas para la persona, es un patrón de consumo que resulta en un deterioro de la salud, de las relaciones interpersonales o de la capacidad de trabajar.(NATIONAL INSTITUTE ON DRUG ABUSE)

1.2.3 Alcohol en el organismo (metabolismo)

El etanol es una sustancia que se puede administrar de diversas formas y absorber por múltiples vías. Como sustancia psicoactiva, la principal y casi exclusiva vía de administración es la oral. El proceso de absorción gastrointestinal se inicia inmediatamente después de su ingestión.



Absorción: La superficie de mayor absorción (FIG.6) es la primera porción del intestino delgado, con aproximadamente 70 %; en el estómago se absorbe un 20 % y en el Colon un 10 %. (6,7,8)

La rapidez de absorción depende del alcohol que llegue hasta el intestino delgado, de tal manera que distintos aspectos, como por ejemplo, la presencia de alimentos en el estómago, cantidad de alcohol ingerida y características de la bebida consumida, influyen en la

velocidad de absorción. El nivel máximo de alcohol en sangre se alcanza entre los 30 y 90 minutos desde que se ingiere la bebida. Con el estómago vacío la rapidez de absorción es máxima, y tras una comida copiosa y rica en grasas es mucho más lenta. Sin embargo, en ambos casos todo el alcohol acaba absorbiéndose y haciendo efecto en el organismo. A pesar de que una pequeña cantidad de alcohol es absorbida hacia

la circulación sanguínea a través de la membrana mucosa gástrica, la actividad de la enzima que destruye el alcohol (alcohol deshidrogenasa) es menor en las mujeres que en los hombres, es decir, en el caso de los hombres esta enzima destruye algo de alcohol, mientras que en las mujeres lo hace en menor medida. (*REVISTA IBEROAMERICANA DE PSICOLOGÍA: CIENCIA Y TECNOLOGÍA (1): 73-85, 2008*)

Distribución: El alcohol se distribuye en el agua corporal, por lo que la mayoría de los tejidos del organismo -el cerebro, el corazón y los músculos- tienen la misma concentración de alcohol que la sangre. Una vez absorbido el alcohol se distribuye por la sangre y desde ahí alcanza todo el organismo. No obstante, el alcohol tiende a acumularse en la grasa; por ello las personas con mucha grasa toleran algo mejor el alcohol, este queda transformado en una sustancia llamada Acetaldehído (FIG.7), altamente tóxico para nuestro organismo y que rápidamente pasa, en persona sanas, al hígado para su transformación inmediata. Este es un proceso fundamental debido a la gran capacidad tóxica de este elemento.

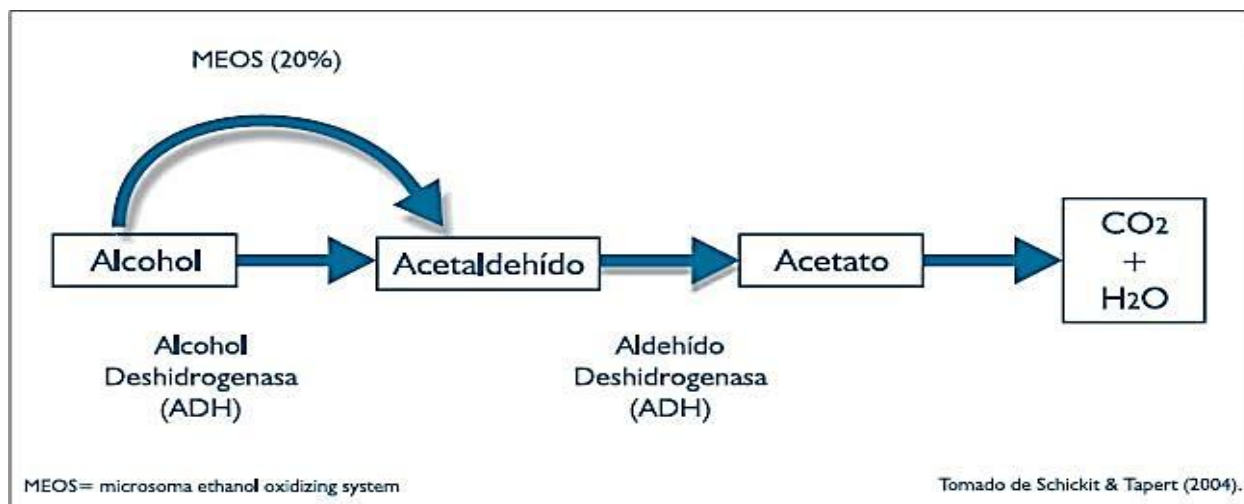


FIG. 7. DESCRIPCIÓN DEL METABOLISMO DEL ETANOL POR EL SISTEMA MICROSOMAL (MEOS). TOMADO DE SCHICKIT & TAPERT (2004).

Metabolismo: El principal sitio de degradación del etanol es el hígado, aunque también el estómago puede metabolizarlo, la mayor parte del etanol es oxidado primero hasta acetaldehído por acción de la alcohol deshidrogenasa y da como resultado la transformación en Acetato y a su vez en Dióxido de Carbono y agua. El alcohol es una

de las pocas sustancias que se metaboliza a una velocidad constante (8-12 ml por hora, 10 gr por término medio en una persona de 70 Kg), e independiente de la concentración de alcohol en sangre.

Eliminación: Entre el 2 y el 10% del etanol ingerido se elimina sin metabolizar, principalmente por orina, aire espirado y sudor. Debido a que existe una equivalencia conocida entre el alcohol en sangre y en aire espirado (la concentración de etanol en sangre se encuentra en equilibrio con la concentración en aire alveolar en una relación de 1:2000 a 1: 2300), es posible estimar la concentración de alcohol en sangre a partir de la concentración alcohólica en aire, constituyendo la base de la utilización de los etilómetros (los que utiliza la policía de tráfico) como instrumento de cuantificación alcohólica. La velocidad de la degradación del etanol en el hígado esta limitada por la actividad de la enzima alcohol deshidrogenasa. La cantidad disponible de NAD^+ es un factor limitante. Con concentraciones bajas de etanol se alcanza la velocidad de degradación máxima. por esa razón el nivel de etanol disminuye cuando la velocidad es constante. El valor calórico del etanol es de $29.4 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$ ($7 \text{ kcal} \cdot \text{g}^{-1}$) por ese motivo las bebidas alcohólicas pueden contribuir en forma notable al aporte energético en la nutrición, especialmente en los alcohólicos. [libro bioquímica texto y atlas]

1.2.4 Efectos toxicos del alcohol (Alcoholismo)

El alcohol etílico es la sustancia psicoactiva de mayor consumo en el mundo. De acuerdo con el informe mundial sobre el consumo de drogas de la ONU de 2004, se estima que en el mundo cerca de 2.600 millones de personas lo consumen ya sea en forma ocasional, habitual, abusiva o adictiva. Sus altos índices de consumo, su comprobado efecto tóxico sobre la salud, sus repercusiones negativas sobre los roles sociales del individuo, unidos al hecho de ser una sustancia legal y socialmente aceptada, señalan el consumo incontrolado de bebidas alcohólicas como un verdadero problema de salud pública, sobre el cual es necesario llamar la atención. (4,7)

En intoxicación aguda con niveles altos de alcoholemia (mayor de 200 mgr por ciento), se produce un bloqueo en el hígado para la utilización de lactato producido en otros tejidos, generando una hiperlactacidemia, lo que puede llevar a una descompensación

metabólica de tipo acidótico. Lesiona la mitocondria por interferencia directa del alcohol y el acetaldehído sobre la síntesis de ATP. La relación NAD/NADH se altera por un daño mitocondrial generado por las altas concentraciones de acetaldehído. Inhibe la secreción de albúmina y la síntesis de glicoproteínas hepatocitarias, produciendo hipoproteinemia, la cual lleva a una alteración funcional de la membrana plasmática.

Incrementa la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos, con disminución de la oxidación de los primeros, generando una hiperlipidemia que conlleva al desarrollo de hígado graso. Inhibe la utilización de ácidos grasos y la disponibilidad de precursores, lo cual estimula la síntesis hepática de triglicéridos, lo cual produce hígado graso, hallazgo característico en alcohólicos crónicos. Induce un estímulo de la lipogénesis, que desencadena un incremento del lactato y de los ácidos grasos. Al aumentar la relación lactato/piruvato se produce una hiperlactacidemia, que conlleva a la disminución de la excreción renal de ácido úrico, lo que genera hiperuricemia. En intoxicación aguda se reduce la excreción urinaria de ácido úrico, con la consiguiente hiperuricemia y la producción de un ataque de gota.

1.2.4.1 El Alcohol Inhibe la gluconeogénesis y aumenta la resistencia a la insulina.

Inhibe la gluconeogénesis y aumenta la resistencia a la insulina. Altera la absorción intestinal de tiamina y otros nutrientes. Teniendo en cuenta que la tiamina actúa como coenzima de otras enzimas relacionadas con el metabolismo y aprovechamiento energético de la glucosa en el cerebro, la deficiencia de esta vitamina origina que el metabolismo cerebral de la glucosa se desvíe hacia la ruta anaeróbica disminuyendo con esto su rendimiento energético. El alcohol inhibe la gluconeogénesis y ésta alteración en la insulina impide la entrada de las pequeñas cantidades de glucosa que hallan en el compartimiento extracelular (14)

1.2.4.2 Alcohol favorece a la Cetoacidosis metabólica: complicación debida a la producción excesiva de cuerpos cetónicos, al incrementar el hígado la producción de energía a partir de los ácidos grasos generando gran cantidad de cetoácidos como betahidroxibutírico y acetoacetato. Cada paso de etanol a acetaldehído y a ácido acético genera la producción de NADH. El uso de NADH disminuye el NAD e

igualmente incrementa el lactato, mecanismo básico de la cetoacidosis alcohólica. Los pacientes con cetoacidosis alcohólica presentan intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. La insulina es antagonizada por el incremento que se observa en éstos pacientes de la hormona de crecimiento, catecolaminas, cortisol, glucagón y ácidos grasos libres.

1.2.4.3 Pancreatitis etilica: la aparición de esta complicación es frecuente en los pacientes con historia de abuso de alcohol. El mecanismo que explica esta lesión es dado por una secreción pancreática aumentada de proenzimas, actividad lisosómica aumentada y por una disminución de la capacidad de inactivación de tripsina en el interior de la glándula con función excretora deteriorada del aparato de Golgi. Estas situaciones activan las enzimas y los factores de coagulación y los mediadores de la inflamación que desencadenan el ataque de pancreatitis.

1.2.4.4 Ataque etílico agudo de gota: se presenta por estímulo de la lipogénesis, que desencadena un incremento del lactato y de los ácidos grasos. Al aumentar la relación lactato/piruvato se produce una hiperlactoacidemia, que conlleva a la disminución de la excreción renal de ácido úrico, lo que genera hiperuricemia y la producción del ataque de gota.

1.2.4.5 Hepatitis alcohólica: es la precursora de la cirrosis. Está dada por una lesión inflamatoria caracterizada por la infiltración hepática con leucocitos, daño hepático, necrosis de hepatocitos e hialinización alcohólica. Las secuelas de fibrosis son irreversibles. Sus manifestaciones clínicas pueden ser leves a graves comprendiendo: anorexia, náuseas, vómito, disminución de peso, dolor abdominal, ictericia, fiebre, angiomas arteriales cutáneos, ascitis, edema, encefalopatía y hemorragia de vías digestivas.

1.2.4.6 Pancreatitis crónica por abuso de alcohol: clínicamente se caracteriza por dolor abdominal persistente, insuficiencia exocrina y cuadro de diabetes. Generalmente se presenta después de cuadros de pancreatitis aguda a repetición. Microscópicamente se presentan fibrosis pancreática y calcificación irregular con destrucción del parénquima exocrino y endocrino.

1.2.4.7 Síndrome de malabsorción: el etanol en consumo crónico altera la absorción de minerales, vitaminas y otros nutrientes principalmente en el intestino delgado. Disminuye la concentración sanguínea de potasio, magnesio, zinc, fósforo y calcio. Estas deficiencias dan origen a múltiples alteraciones clínicas.

1.2.4.8 Alcohol daña al sistema renal: La cafeína, así como el alcohol y la taurina aumentan la diuresis, provocando deshidratación y pérdida de sodio. Esta combinación actúa inhibiendo la liberación de hormona anti-diurética a nivel supra-óptico-ventricular, mientras que la cafeína actúa directamente sobre la filtración glomerular renal. Debido a los diferentes mecanismos de acción que presentan la cafeína, la taurina y el alcohol, sus efectos se potencian aumentando la diuresis por inhibición de la reabsorción tubular y la deshidratación corporal. La deshidratación aguda (hiponatremia) trae como consecuencia, congestión pulmonar, desorientación, confusión, vómitos y calambres musculares, síntomas que pueden derivar en graves complicaciones cardiopulmonares con riesgo de muerte.

1.3 Efectos clínicos de las bebidas energizantes en combinación con alcohol

Una lata de BE puede tener el mismo contenido de cafeína que una taza de café, o el doble que una lata de bebida cola aunque en 40% menos volumen. La máxima concentración en sangre se alcanza entre los 30 y 45 minutos de haberla ingerido. A las 3 horas ya se ha eliminado la mitad de lo que se ha absorbido y su efecto parece desaparecer. Esta rápida eliminación produce deshidratación.

Para algunos autores a un las dosis bajas de cafeína mejoran el desempeño cognitivo y el estado de ánimo. Otros autores sostienen que los efectos percibidos por los consumidores no representan beneficios netos, sino más bien la reversión de la caída del desempeño que ocasiona la falta de cafeína en sujetos habituados a su consumo. En aquellos que no consumen cafeína o lo hacen en poca cantidad el efecto en el estado de ánimo y el desempeño es modesto.

Sobre la creencia respecto de que las BE combinadas con el alcohol reducen el efecto depresor de este último, En un estudio que evaluó la interacción de ambas

bebidas se observó que en los consumidores de un coctel de BE + alcohol la percepción del deterioro de la coordinación, cefalea, debilidad y sequedad bucal fue menor respecto de aquellos que consumieron sólo alcohol, mientras que el deterioro objetivo del tiempo de reacción visual y de la coordinación motora, y la concentración de alcohol espirado fueron similares en ambos grupos. Esta combinación, además de incrementar la potencial letalidad de la intoxicación alcohólica, ocasiona mayor prevalencia de situaciones de abuso sexual sobre sí mismos o sobre terceros, de accidentes de tránsito, de sufrir heridas o herir a otros o de requerir atención médica.

La estrategia de promoción de las BE se basa en la posibilidad de poder permanecer despierto y bailar toda la noche. La combinación del efecto estimulante de la cafeína y el efecto depresor del alcohol reduce los síntomas de letargo asociados al estado de embriaguez, lo que lleva a subestimar los niveles de intoxicación.

2.0 JUSTIFICACIÓN

El alcohol ha sido estudiado a lo largo del tiempo; sin lugar a duda su consumo causa daños irreversibles en el organismo; en la actualidad es “normal” que la gente consuma bebidas alcohólicas de forma excesiva en fiestas o reuniones. Es bien sabido que el alcohol es perjudicial a mediano y largo plazo, las bebidas energizantes por otro lado también afectan al organismo y se pretende evaluar y comprender el efecto de estas en tres situaciones diferentes: consumo de alcohol por sí solo, por otro lado bebidas energizantes y la combinación de ambas sustancias, teniendo un grupo control al cual se le administrara agua.

De acuerdo a una encuesta internacional patrocinada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la venta entre jóvenes y adultos de las llamadas bebidas energizantes, ha ido en aumento hasta alcanzar un porcentaje del 34%, mientras que el rango de las personas que han mezclado esas bebidas con alcohol u otra sustancia ronda el 48%.

El presente trabajo tiene como finalidad evaluar el impacto en 3 órganos importantes: hígado, riñones y páncreas; los cuales se ven afectados por su consumo y abuso, de alcohol, bebidas energizantes y la combinación de ambos en rata, lo cual nos permitirá interpretar los posibles daños que estas sustancias ocasionan al ser humano, basados en datos científicos poder corroborar y analizar daños a nivel de estos órganos con datos experimentales al consumir alcohol combinado con bebidas energizantes respecto a tomarlas por separado se evaluara su efecto sobre uno o más marcadores químico-clínico plasmáticos hepato-renales y pancreáticos.

3.0 OBJETIVOS

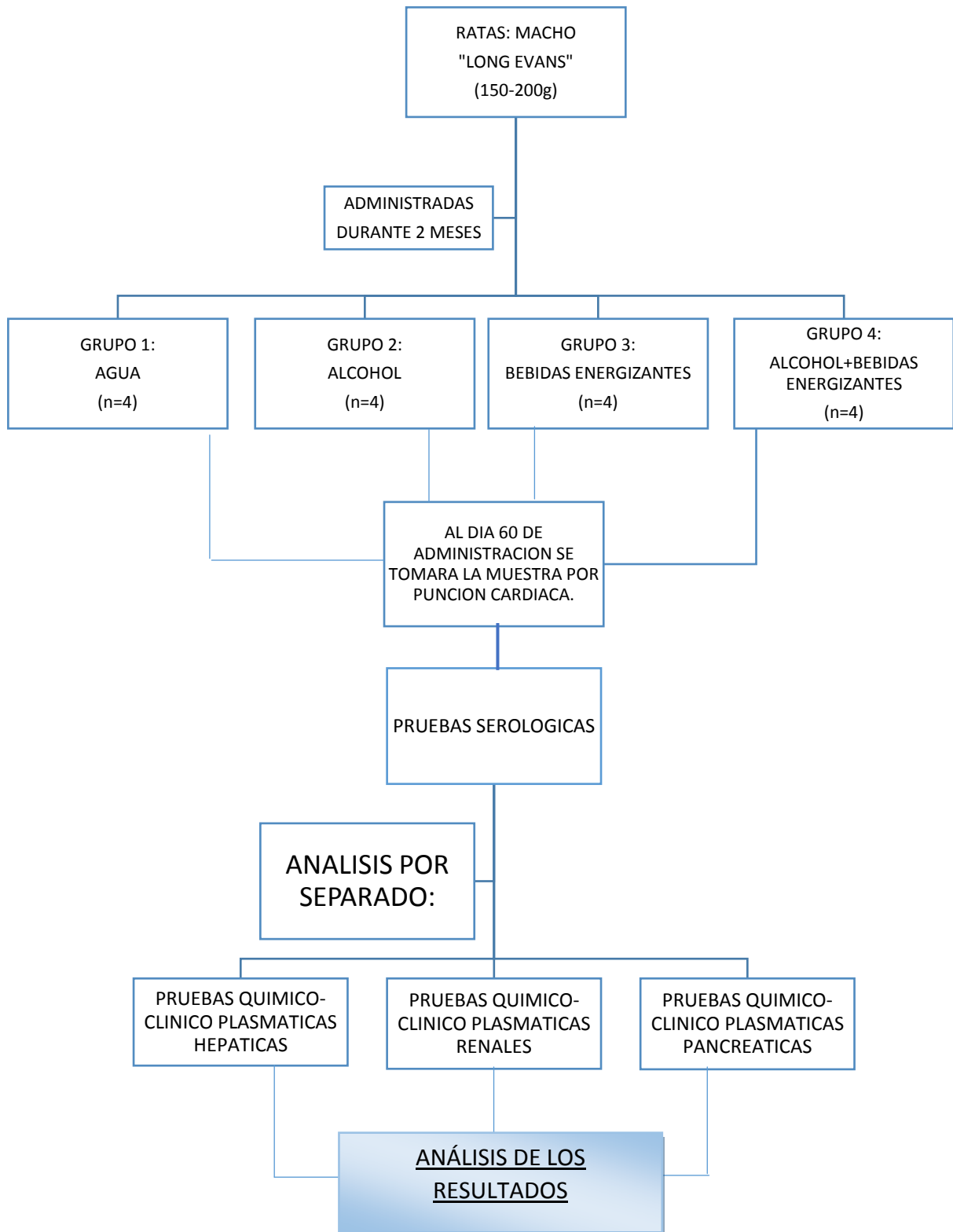
3.1 Objetivo General

Evaluar el efecto del consumo y abuso de: alcohol, bebidas energizantes y la combinación de ambas; sobre la función químico- clínica plasmática en rata.

3.2 Objetivos Particulares

- ❖ -Evaluar el efecto del consumo y abuso de alcohol, bebida energizante y su combinación sobre parámetros químico –clínicos plasmáticos hepáticos en rata.
- ❖ -Evaluar el efecto del consumo y abuso de alcohol, bebida energizante y su combinación sobre parámetros químico –clínicos plasmáticos renales en rata.
- ❖ -Evaluar el efecto del consumo y abuso de alcohol, bebida energizante y su combinación sobre parámetros químico –clínicos plasmáticos pancreáticos en rata.

4.0 METODOLOGIA DE TRABAJO



5.0 DESARROLLO EXPERIMENTAL.

5.1 Animales de experimentación

Se utilizarán ratas macho de la cepa LONG EVANS de 150-200 gr de peso, provenientes del “*Bioterio Claude Bernard de la BUAP*”. Los animales se alojarán en el vivario del bioterio, se colocaron en cajas de acrílico, se mantuvieron con un ciclo de luz-oscuridad 12 h / 12 h a una temperatura de 22 ± 2 °C y con alimento ad libitum.

La manipulación de los animales se llevara a cabo de acuerdo a los lineamientos del Comité para el cuidado de los animales de laboratorio, el cual contempla la correcta aplicación de los criterios establecidos por la Norma Oficial Mexicana “Especificaciones técnicas para la producción, uso y cuidado de animales de laboratorio NOM-062-Z00-1999”.

5.2 Preparación de sustancias empleadas en los tratamientos

La combinación de Bebidas Energizantes y Alcohol (vodka) será en una proporción de 60-40%.

La bebida etílica se hará con una dilución al 40% con agua.

5.3 Tratamientos experimentales

Se formaran 4 grupos experimentales de n=4 a los cuales se les dará diferente tratamiento, durante un periodo de 60 días.

Grupo “C” o Grupo control- administración: agua.

Grupo “A” o Grupo alcohol- administración: vodka al 40%.

Grupo “B.E” o Grupo B.E.- administración: Bebidas energizantes.

Grupo “A+B.E” o Grupo problema: administración: combinación de las BE con vodka 40%.

5.4 Obtención de muestra sanguínea

Se deberá suspender el alimento el día 60, con un tiempo de 5 hrs antes de realizar la prueba.

Se procederá a anestesiarse a las ratas (en una dosis de ketamina + xilazina 0.2 ml/100 g. vía Intraperitoneal) se procederá a tomar muestra por punción intracardiaca y se les extraerán 700 µl de sangre (aproximadamente). Recolectar la muestra en un tubo Eppendorf, centrifugar la muestra a 8000 r.p.m, durante 10 min.

6.0 PROTOCOLO PARA DETERMINACION DE LABORATORIO.

Una vez culminado el tiempo de administración (60 días), se realizará la punción cardiaca a cada uno de los sujetos colocando cada muestra en tubos amarillos (evitando la coagulación de sangre) para posterior procesamiento y obtención de las siguientes pruebas:

	<u>MARCADORES</u> <u>QUIMICO-CLINICO PLASMATICOS</u>		
RENALES	PANCREATICAS	HEPATICAS	
AC. URICO	HB. GLUCOSILADA	COLESTEROL	
CREATININA	GLUCOSA	HDL	
UREA	INSULINA	LDL	
SODIO	HOMA-IR	VLDL	
POTASIO	HOMA-S%	TRIGLICERIDOS	
CLORO	HOMA-B%	ALT	
Ca. Ionizado	IND.GENERACION DE INSULINA	AST	
osm. Calc.	IND. DE DISPOSICION DE INSULINA	ALKP	
	IND. DE DISFUNCION ADIPOSITARIA POR R.I.	GGT	
	AMILASA		

7.0 DESARROLLO DE LAS PRUEBAS

Una vez tomadas las muestras con las características antes mencionadas se procederá a su análisis mediante las distintas pruebas serológicas.

7.1 Determinación de hemoglobina glucosilada

a) fundamento del método

Después de preparar un hemolizado, donde se elimina la fracción lábil, las hemoglobinas son retenidas por una resina de intercambio catiónico, eluyéndose de forma específica la hemoglobina a1c (hba_{1c}) previa eliminación por lavado de la hemoglobina a1a+b (hba_{1a+b}). La estimación del porcentaje de la hb a_{1c} se realiza por lectura de la absorbancia a 415 nm.

b) procedimiento

1. Dejar atemperar reactivos y columnas durante unos minutos, hasta que alcancen la temperatura ambiente (21-26°C).

2. Pipetear en un tubo de ensayo:

SANGRE	50 µL
REACTIVO (1)	200 µL

3. Agitar y dejar a temperatura ambiente durante 10-15 min.

4. (Preparación de la columna) Destapar la parte superior de la columna y romper a continuación la lengüeta inferior.

5. Con la ayuda del extremo plano de una pipeta, bajar el disco superior hasta el nivel de la resina, evitando comprimirla. Dejar gotear hasta que el líquido alcance el nivel del disco, desechando el eluido.

6. (Separación y lectura de la HbA1c) Aplicar cuidadosamente sobre el disco superior:

HEMOLIZADO 50 µL DESECHAR EL ELUIDO

7. Cuando haya penetrado todo el hemolizado añadir, procurando arrastrar los posibles restos del mismo:

REACTIVO (2) 200µL DESECHAR EL ELUIDO

8. Pipetear:

REACTIVO (2) 2.0 ML DESECHAR EL ELUIDO

9. Colocar la columna sobre un tubo de ensayo y añadir:

REACTIVO (3) 4,0 ML RECOGER EL ELUIDO (FRACCIÓN HbA1C)

10. Agitar bien y leer la absorbancia de la fracción HbA1c a 415 nm frente a agua destilada (AHbA1c). La absorbancia es estable durante al menos una hora.

Lectura de la HbTOTAL

11. Pipetear en un tubo de ensayo:

REACTIVO (3)	12,0 ML
HEMOLIZADO	50 µL

12. Agitar bien y leer la absorbancia de la HbTOTAL a 415 nm frente a agua destilada (AHb TOTAL). La absorbancia es estable durante al menos una hora.

Calculos:

El porcentaje de HbA1c en la muestra se calcula a partir de la siguiente formula general:

$$\frac{A_{HbA1c} \times V_{HbA1c}}{A_{HbTOTAL} \times V_{HbTOTAL}} \times 100 = \% HbA1C$$

El volumen de HbA_{1c} (V_{HbA1c}) es 4ml, el volumen de Hb total (V_{Hb TOTAL}) es 12ml. se deduce la siguiente formula para el calculo de la concentracion.

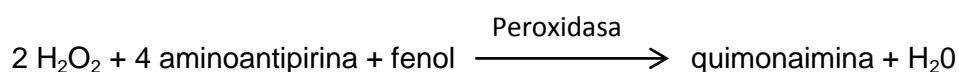
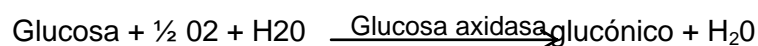
$$\frac{A_{HbA1c}}{A_{HbTOTAL}} \quad | \quad \times \frac{100}{3} = \% HbA1C$$

7.2 Determinacion de la concentracion glucosa serica

a) **Fundamento** En la reacción de Trinder , la glucosa es oxidada a D-gluconato por la glucosa oxidasa (GOD), con formación de peróxido de hidrógeno. En

presencia de peroxidasa (POD), el fenol y la 4- aminoantipirina (4-AA) se condensan por acción del peróxido de hidrógeno, formando una quinonaimina roja proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

La glucosa presente en la muestra origina un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría.



b) metodo (glucosa oxidasa / peroxidasa)

1. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente
2. Pipetear en un tubo de ensayo:

	BLANCO	PATRON	MUESTRA
PATRÓN(S)		10 µL	
MUESTRA			10 µL
REACTIVO(A)	1.0 mL	1.0 mL	10 µL

3. Agitar bien e incubar los tubos durante 10 min. A temperatura ambiente o durante 5 min a 37°C.
4. Leer la absorbancia (abs) del patrón y de la muestra a 500 nm frente al blanco . el color es estable durante al menos 2 hrs.

Calculos

La concentración de glucosa en la muestra se calcula a partir de la siguiente formula:

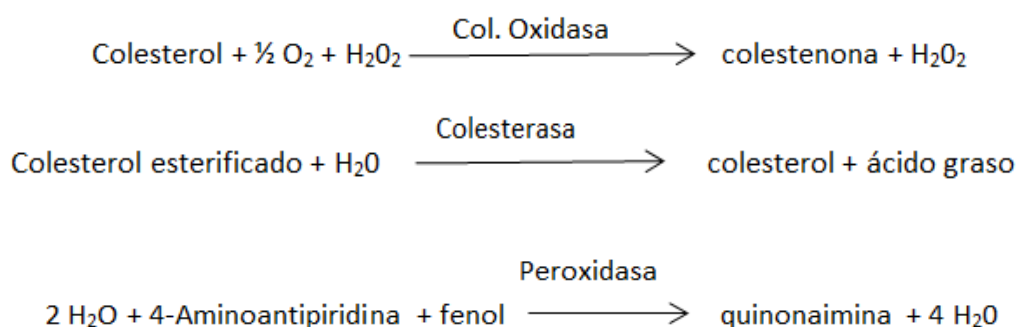
$$\frac{A \text{ muestra}}{A \text{ patron}} \times C \text{ patron} = \text{mg/dl glucosa}$$

7.3 Determinación de colesterol.

La concentración sérica de colesterol total, se realiza por química líquida en la que los ésteres de colesterol reaccionan con una colesterolestera dando como resultado colesterol y ácidos grasos libres, el colesterol resultante se oxida mediante una colesteroles oxidasa, esta reacción tiene como productos colesteno-3-ona y peróxido de hidrógeno, este último se acopla a una reacción con 4-aminoantipirina y fenol coordinada por una peroxidasa obteniendo como producto final coloreado quinonaimina el cual se determina por espectrofotometría a una longitud de onda de 505 nm.

a) Fundamento:

Tanto el colesterol libre como el esterificado presentes en la muestra original, según las reacciones acopladas a continuación, un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría.



b) método (colesterol oxidasa/peroxidasa)

1. Atemperar el reactivo ambiente
2. Pipetear en un tubo de ensayo
3. Agitar bien e incubar los tubos durante 10 min a temperatura ambiente o durante 5 min a 37°C.

4. Leer la absorbancia (Abs) del patrón y de la muestra a 500 nm frente al blanco. El color es estable en la muestra durante al menos 2 hrs.

Cálculos

La concentración del colesterol en la muestra se calcula a partir de la siguiente formula:

$$A_{\text{muestra}} \frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{patrón}}} \times C_{\text{patrón}} = C_{\text{muestra}}$$

7.4 Determinacion de colesterol HDL

a) fundamento

El colesterol de las proteínas de baja densidad (LDL), las de muy baja densidad (VLDL), y los quilomicrones es hidrolizado por una colesterol oxidasa mediante una ración enzimática acelerada no formadora de color. El detergente presente en el reactivo solubiliza el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) de la muestra. El colesterol (HDL) se cuantifica espectrofotométricamente mediante las reacciones acopladas descritas a continuación. El colesterol esterificado y los ácidos grasos libres, el colesterol resultante sufre una semioxidación e hidratación por una colesterol oxidasa, dando como resultado colesteno y peróxido de hidrógeno, este se acopla a una reacción coordinada por una peroxidasa con 4-aminoantipirina y una solución buffer DSBmT obteniéndose como producto final quinonaimina, que presenta un color y este es detectado por espectrofotometría a una longitud de onda de 505 nm.

b) método

1. Pipetear en tubo
2. Agitar y dejar durante 15 min a temperatura ambiente.
3. Centrifuga durante 15 min a 4000 r.p.m.
4. Recoger con cuidado el sobranete

Colorimetría

5. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente
6. Pipetear en un tubo de ensayo:

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
AGUA DESTILADA	100 µl		
PATRÓN COLESTEROL HDL(S)		100 µl	
SOBRENADANTE MUESTRA			100 µl
REACTIVO DE COLESTEROL (A)	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

7. Agitar bien e incubar los tubos durante 30 min a temperatura ambiente o durante 10 min a 37°C.
8. Leer la absorbancia (Abs) del patrón y de la muestra a 505 nm frente al blanco. El color es estable como mínimo 30 min.

Cálculos

La concentración de colesterol HDL en la muestra se calcula a partir de la siguiente formula:

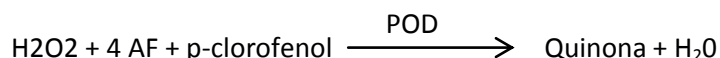
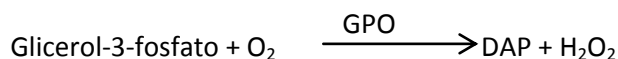
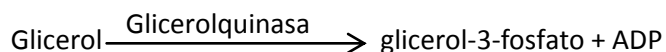
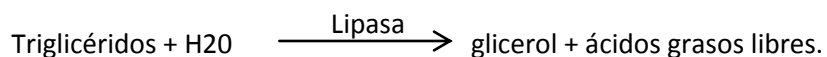
$$\frac{A \text{ muestra}}{A \text{ patrón}} \times C \text{ patrón} \times \text{factor de dilucion de muestra} = C \text{ muestra}$$

7.5 Determinación de la concentración de triglicéridos.

a) fundamento:

La concentración sérica de triglicéridos , se realiza por química líquida mediante reacciones acopladas que corresponde a una reacción coloreada que se evalúa por espectrofotometría , en la cual los triglicéridos se hidratan mediante una lipasa, en la cual se obtienen glicerol y ácidos grasos libres, el glicerol reacciona con ATP contenido en el reactivo reacción propicia por la enzima glicerol cinasa, resulta glicerol-3-fosfato y ADP, el glicerol-3-fosfato se oxida por la reacción acoplada por una G-3-oxidasa dicha reacción tiene por productos dihidroxiacetona-P y peróxido de hidrogeno (H₂O₂), este reacciona a su vez con 4-aminoantipirina y 4-clorofenol mediante una peroxidasa obteniéndose una

reacción coloreada de quinonaimina que es mediada a una longitud de onda de 505 nm.



b) Método(glicerolfosfato deshidrogenasa-peroxidasa).

1. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
2. Pipetear en un tubo de ensayo.

	BLANCO	PATRON	MUESTRA
PATRÓN (S)		10 µL	
MUESTRA			10 µL
REACTIVO (A)	1.0 mL	1.0 mL	10 µL

3. Agitar bien e incubar los tubos duranbte 10 min. A temperatura ambiente o durante 5 min. A 37°C.
4. Leer la absorcion (Abs) del patron y de la muestra a 505 nm frente al blanco. El color es estable como minimo 30 min.

Calculos

La concentracion de trigliceridos en la muestra se calcula a partir de la siguiente formula:

$$A_{\text{muestra}} \frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{patrón}}} \times C_{\text{patrón}} = C_{\text{muestra}}$$

7.6 DETERMINACION DE ACIDO URICO

a) Fundamento del método:

El ácido úrico es oxidado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno ($2H_2O_2$) que en presencia de peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) y 2,4-Diclorofenol Sulfonato (DCPS) forma un compuesto rosáceo: $\text{Ácido úrico} + 2H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{Uricasa}} \text{Alantoína} + CO_2 + 2H_2O$ $2H_2O_2 + 4-AF + DCPS \xrightarrow{POD} \text{Quinonaimina} + 4H_2O$ La intensidad de quinonaimina roja formada es proporcional a la concentración de ácido úrico presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO El ácido úrico y sus sales son el producto final del metabolismo de las purinas. En una insuficiencia renal progresiva hay una retención en sangre de urea, creatinina y ácido úrico. Niveles altos de ácido úrico son indicativos de patología renal y generalmente se asocia con la gota^{1,5,6}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

PROCEDIMIENTO 1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda:520 nm (490-550)

Cubeta:.....1 cm paso de luz

Temperatura 37°C / 15-25°C².

1. Atemperar el kit a temperatura ambiente.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota1-2) (μL)	--	25	--
Muestra (μL)	--	--	25

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C ó 10 min. 15-25°C.

5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

6. CÁLCULOS

Suero o plasma $(A)_{\text{Patrón}} / (A)_{\text{Muestra}} \times 6$ (Conc. Patrón) = mg/dL de ácido úrico en la muestra

Orina 24 h $(A)_{\text{Patrón}} / (A)_{\text{Muestra}} \times 6 \times \text{vol. (dL) orina/24h}$ = mg/24 h de ácido úrico
Factor de conversión: mg/dL x 59,5= mol/L.

PROCEDIMIENTO 1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 630 nm (600-650)

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura 15-25°C

1. Atemperar el kit a temperatura ambiente.

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta: Blanco Patrón Muestra R (mL) 1,0 1,0 1,0 Patrón (Nota1-2) (L) -- 5 -- Muestra (L) -- -- 5

4. Mezclar e incubar 10 min a temperatura ambiente (15-25°C).

5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable 1 hora a temperatura ambiente. **CÁLCULOS** $(A)_{\text{Patrón}} / (A)_{\text{Muestra}} \times 5$ (Conc Patrón) = g/dL de albúmina en la muestra
Factor de conversión: g/dL x 144,9 = mol/L
CONTROL DE CALIDAD Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.
VALORES DE REFERENCIA 3,5 a 5,0 g/dL¹ . Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia

7.7 DETERMINACION DE INSULINA:

a) Fundamento del método

Los anticuerpos anti-insulina presentes en el suero se unen a los antígenos adsorbidos a la superficie de los pocillos de la microplaca. A continuación, se incuba con anticuerpos anti-IgG humana conjugados con peroxidasa. Finalmente, se añade el sustrato 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) en presencia de H_2O_2 , que al ser degradado por la peroxidasa da lugar a un producto de color azul. La reacción enzimática se detiene con una solución de ácido clorhídrico y la formación de producto amarillo se mide a 450 nm. La concentración de anticuerpos en la muestra es proporcional a la absorbancia del producto de la reacción.

b) Procedimiento

1. Atemperar los componentes del kit a temperatura ambiente.
2. Abrir la bolsa de la microplaca (M) y retirar la cantidad necesaria de pocillos .
3. Determinación cuantitativa: Pipetear 100 μ L de cada uno de los patrones (S1-S6), Control Positivo (C+), Control Negativo (C-) y muestras diluidas en distintos pocillos. Determinación cualitativa: Pipetear 100 μ L de Patrón S3, Control. Positivo (C+), Control Negativo (C-) y Muestras diluidas en distintos pocillos. Pipetear 100 μ L de Diluyente de Muestra para el blanco.
4. Incubar los pocillos durante 30 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente.
5. Aspirar el líquido y lavar los pocillos con 300 μ L de Tampón de Lavado durante unos 10 segundos 3 veces (Notas 3 y 4).
6. Pipetear 100 μ L de Conjugado (D) en cada uno de los pocillos.
7. Incubar los pocillos durante 15 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente.

8. Lavar como en el paso 5.
9. Pipetear 100 μL de Sustrato (E) en cada uno de los pocillos.
10. Incubar los pocillos durante 15 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente.
11. Pipetear 100 μL de Solución de Paro (F) en cada uno de los pocillos e incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente (Nota 5).
12. Medir la absorbancia del contenido de cada pocillo a 450 nm usando el Patrón S1 o el blanco para el ajuste a 0. El color es estable durante al menos 30 minutos.

Calcular la razón de absorbancias aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Razón de absorbancia} = \frac{A_{450\text{nm}} \text{ de la Muestra}}{A_{450\text{nm}} \text{ del Valor Discriminante}}$$

Cuando se obtengan valores de absorbancia por encima del límite superior del rango del lector de microplacas, diluir la muestra con Diluyente de Muestra y repetir la operación.

8.0 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos serán expresados como la Media \pm la Desviación Estándar para todos los experimentos. El análisis de resultados se desarrollarán de acuerdo a la prueba estadística pertinente considerándose significativa cuando $p \leq 0.05$.

9.0 RESULTADOS

Los animales fueron divididos en cuatro grupos experimentales (n= 4 por grupo) a los cuales, se les administró agua, alcohol, BE y alcohol más BE, respectivamente. Fueron evaluados por separado dependiendo los marcadores a analizar (hepático, renal o pancreático) según sea el caso; dando como resultado de las pruebas los siguientes resultados.

9.1 Efecto del consumo y abuso de alcohol y bebida energizante y su combinación, sobre marcadores químico-clínicos plasmáticos hepáticos en rata.

Con el fin de demostrar si el consumo de alcohol en combinación con BE altera uno o varios marcadores hepáticos en las ratas, con ello su funcionamiento a largo plazo, se decidió evaluar cada uno de los grupos experimentales, una vez terminado el tiempo de administración los animales fueron anestesiados con éter y por punción cardiaca se obtuvo muestra sanguínea para cuantificar los niveles de colesterol y triglicéridos; por otro lado se cuantificaron los niveles de LDL y HDL y enzimas hepáticas.

9.1.1. Perfil lipídico en suero de rata.

Los datos obtenidos de colesterol y triglicéridos fueron representados en el gráfico 1 donde vemos que los niveles de triglicéridos (FIG. A) del grupo control fueron: 88.25 ± 4.61 mg/dL, en el grupo de BE: 114.5 ± 2.07 mg/dL, en el grupo alcohol: 146.98 ± 4.00 mg/dL y en el grupo de alcohol más BE se registró 92.28 ± 2.37 mg/dL. Por otra parte, al cuantificar la concentración de colesterol (FIG. B) en el plasma de las ratas se mostró que el grupo control presentó 69.85 ± 0.1 mg/dL, mientras que el grupo de BE los niveles fueron de 90.53 ± 4.84 mg/dL, el grupo alcohol registró, 53.45 ± 0.66 mg/dL y finalmente en el grupo tratado con alcohol más BE, los niveles de colesterol fueron de 61.63 ± 2.201 mg/dL.

El análisis estadístico comparativo entre el grupo de alcohol más BE respecto al grupo de control se encontró un aumento en los niveles de triglicéridos (4.56 %) y una disminución en la concentración de colesterol (12.34%).

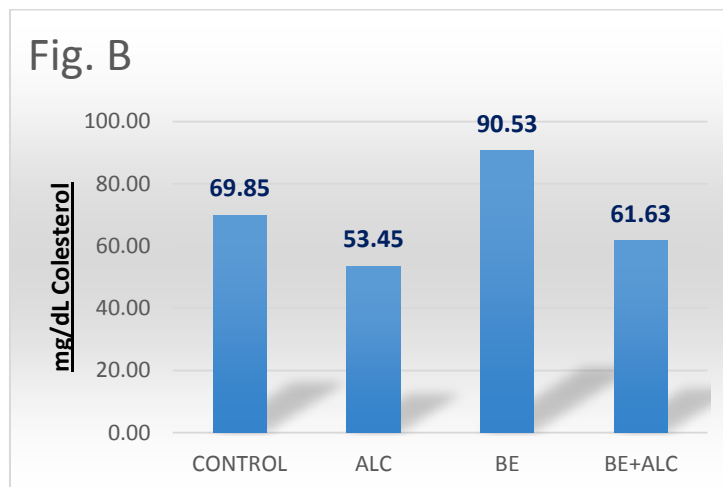
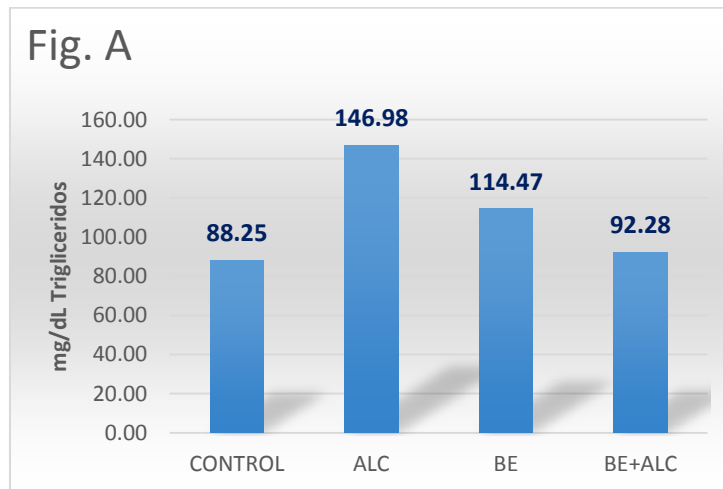


Grafico 1. Grafico del consumo crónico de bebidas energizantes mas alcohol sobre el perfil lipídico (colesterol total y triglicéridos). Una vez que finalizó el tratamiento se obtuvo una muestra de sangre por punción cardiaca para cuantificar la concentración de Triglicéridos (**A**) y Colesterol (**B**) por técnicas espectrofotométricas convencionales. Los datos graficados, corresponden a la media \pm ESM. (ANOVA de una vía, * $p < 0.05$).

9.1.2. Colesterol HDL, LDL y VLDL en suero de rata.

Los datos obtenidos del colesterol HDL, colesterol LDL y VLDL se muestran en el grafico 2, del colesterol LDL (FIG. A) en el grupo control registró, 11.35 ± 0.43 mg/dL de LDL, el grupo Alcohol 12.03 ± 0.69 mg/dL de LDL, el grupo BE mostró 24.47 ± 1.07 mg/dL de LDL y el grupo de alcohol + BE presentó 21.9 ± 0.72 mg/dL de LDL. En la FIG. B, se observan los resultados del colesterol HDL: el grupo control presentó 40.85 ± 3.99 mg/dL de HDL, grupo Alcohol registró 12.01 ± 0.86 mg/dL de HDL, el grupo BE registró 43.17 ± 3.58 mg/dL de HDL, y el grupo alcohol + BE presentó 21.27 ± 1.97 mg/dL de HDL. El análisis de VLDL o análisis de lipoproteína de muy baja densidad LMBD (FIG. C) en el grupo control presentó 17.65 ± 0.92 mg/dL, grupo Alcohol registró 29.40 ± 0.80 mg/dL, el grupo de BE registró 22.89 ± 0.42 mg/dL, y el grupo alcohol + BE presentó 18.46 ± 0.47 mg/dL.

El análisis comparativo del grupo tratado con alcohol más BE durante 60 días, respecto al grupo control, demuestra un incremento de 92.95% de LDL, una disminución del 47.93% de HDL y un aumento en los valores de VLDL del 4.59%.

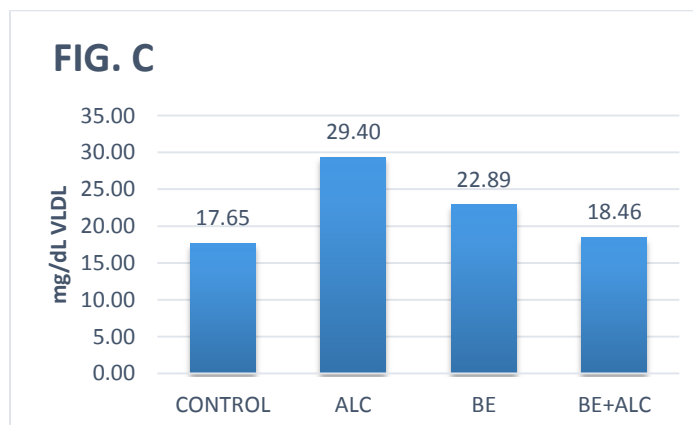
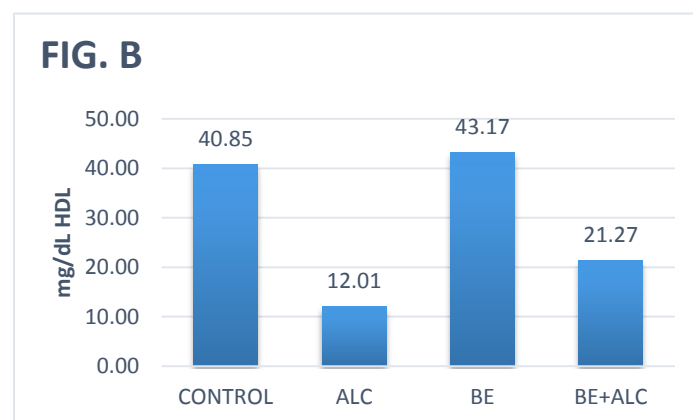
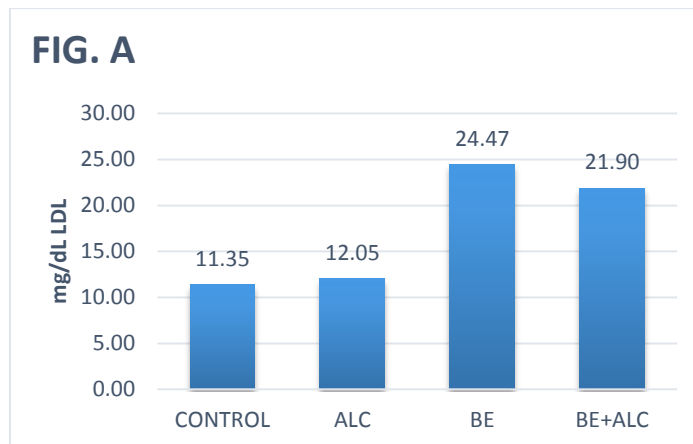


Grafico 2. El efecto de consumo crónico de bebida energizante más alcohol sobre la función hepática Una vez finalizado el tratamiento se obtuvo una muestra de sangre por punción cardiaca para cuantificar la concentración de LDL (A), HDL (B) y VLDL (C) por técnicas espectrofotométricas convencionales. Los datos graficados, corresponden a la media \pm ESM. (ANOVA de una vía, * $p < 0.05$).

9.1.3. Enzimas hepáticas en suero de rata.

Es necesario evaluar enzimas importantes que nos indicaran problemas en el hígado (Grafico 3), estas son la Alanina Aminotransferasa (ALT/GPT (FIG. A)) con los siguientes resultados: grupo control 599.83 ± 16.51 mg/dL, grupo alcohol 780.58 ± 42.51 mg/dL, grupo BE 655.00 ± 68.88 mg/dL y grupo alcohol +BE 587.48 ± 20.21 mg/dL de concentración de ALT. Otra enzima a evaluar es la Fosfatasa Alcalina (ALP/ALKP (FIG. B)) de la cual se registraron las siguientes concentraciones: grupo control 316.95 ± 23.60 mg/dL, grupo alcohol 364.18 ± 21.43 mg/dL, grupo BE 301.50 ± 18.97 mg/dL y grupo alcohol + BE 285.83 ± 40.96 mg/dL. La enzima Aspartato Aminotransferasa (AST/GOT (FIG. C)) obteniendo las siguientes concentraciones: grupo control 305.48 ± 28.74 mg/dL, grupo alcohol 631.68 ± 56.01 mg/dL, grupo BE 466.77 ± 40.28 mg/dL y grupo alcohol + BE 280.20 ± 14.57 mg/dL. y por ultimo analizaremos la enzima Gamma Glutamil Transferasa (GGT (FIG. D)) de la cual se obtuvieron las concentraciones siguientes: grupo control 67.30 ± 8.75 mg/dL, grupo alcohol 76.30 ± 7.13 mg/dL, grupo BE 53.93 ± 1.43 mg/dL y grupo alcohol + BE 96.28 ± 4.43 mg/dL.

El análisis comparativo demuestra una disminución del 2.1% de ALT, una disminución del 9.82% de ALKP, disminuyeron los valores de AST en un 8.28% y un aumento del 43.06% de GGT del grupo tratado con alcohol más BE durante 60 días, respecto al grupo control.

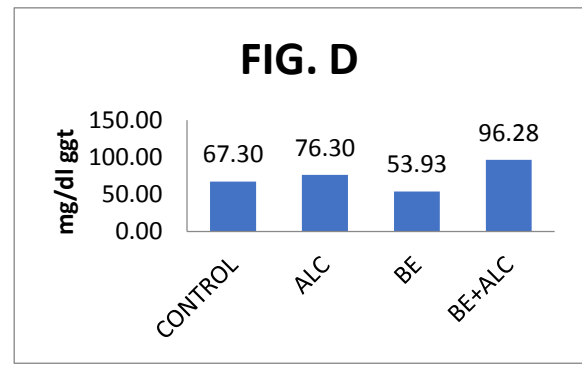
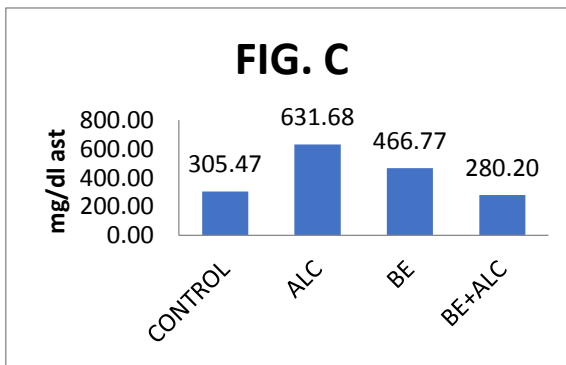
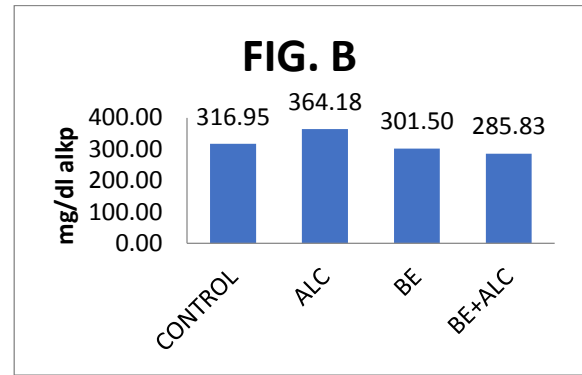
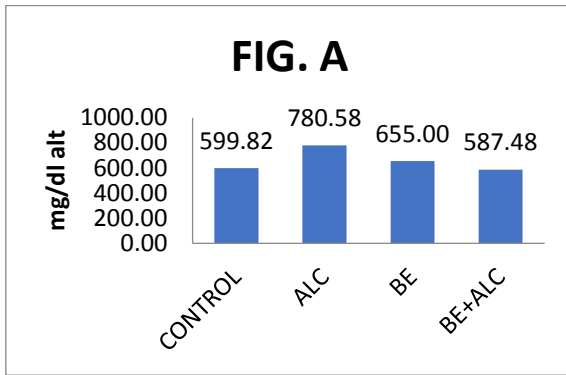


Grafico 3. El efecto de consumo crónico de bebida energizante más alcohol sobre enzimas hepáticas. Una vez finalizado el tratamiento se obtuvo una muestra de sangre por punción cardiaca para cuantificar la concentración de Alanina Aminotransferasa (A), Fosfatasa Alcalina (B), Aspartato Aminotransferasa (C) y Gamma Glutamyl Transferasa (D) por técnicas espectrofotométricas convencionales. Los datos graficados, corresponden a la media \pm ESM. (ANOVA de una vía, $*p < 0.05$).

9.2. Efecto crónico del consumo de alcohol en combinación con bebidas energizantes, sobre marcadores químico-clínicos plasmáticos renales en rata.

Para demostrar si el consumo de alcohol en combinación con BE modificaba el funcionamiento renal a largo plazo, se decidió evaluar el funcionamiento renal de cada uno de los grupos experimentales. Terminado el tratamiento los animales fueron anestesiados con éter y por medio de una punción cardiaca se obtuvo muestra sanguínea para cuantificar los niveles de ácido úrico, urea y creatinina (Grafico 4).

9.2.1. Efecto del consumo crónico de alcohol en combinación de bebidas energizantes sobre los marcadores químico-clínicos plasmáticos de funcionamiento renal.

En el grafico 4, comparamos los resultados de Ac. Urico (Fig. A) donde el grupo control registró una concentración de 3.83 ± 0.11 mg/dL, el grupo de alcohol presentó 4.58 ± 0.10 mg/dL, el grupo de BE obtuvo 6.60 ± 0.15 mg/dL de y en el grupo de alcohol + BE se registraron 5.93 ± 0.23 mg/dl. Respecto a la concentración de Urea (Fig. B) el grupo control obtuvo una concentración de 36 ± 0.41 mg/dL, el grupo con alcohol mostró 41.75 ± 1.65 mg/dL, el grupo tratado únicamente con BE registro valores de 34.67 ± 0.33 mg/dL y el grupo tratado con alcohol + BE se obtuvo una concentración de 51 ± 3.02 y respecto a la Creatinina (FIG. C) el grupo control obtuvo 0.53 ± 0.01 mg/dL, el grupo alcohol 0.67 ± 0.02 mg/dL, el grupo BE 0.67 ± 0.01 mg/dL y el grupo alcohol + BE 0.69 ± 0.03 mg/dL.

El análisis comparativo de los resultados, reveló que el grupo tratado con alcohol más BE incrementa de forma significativa los niveles de ac.úrico (54.83%), urea (41.66%) y creatinina (30.19%), con respecto al grupo control.

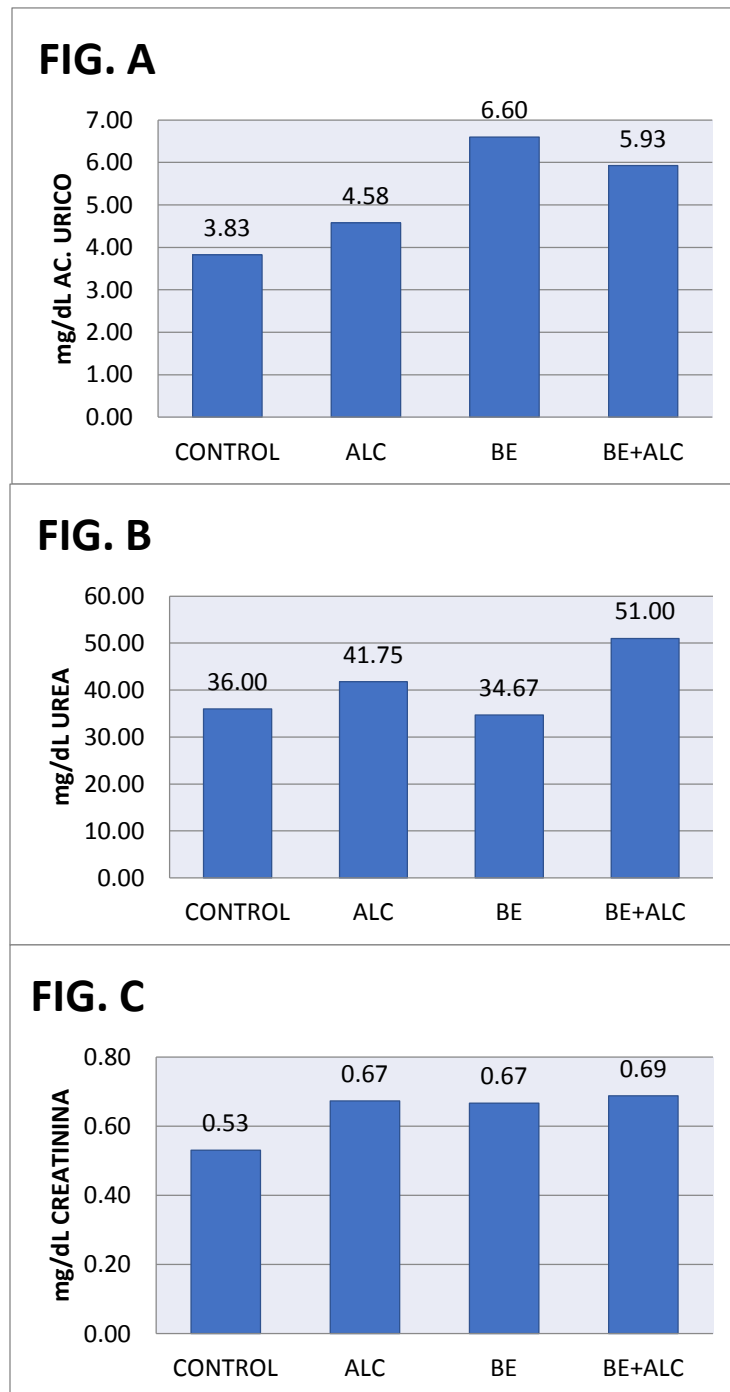


Grafico 4. Evaluación del funcionamiento renal tras el consumo crónico de bebidas energizantes en combinación con alcohol. Una vez finalizado el tratamiento se obtuvo una muestra de sangre por punción cardiaca para cuantificar la concentración de Ac. Úrico (**A**), Urea (**B**) y Creatinina (**C**) por técnicas espectrofotométricas convencionales. Los datos graficados, corresponden a la media \pm ESM. (ANOVA de una vía, * $p < 0.05$).

9.2.2. Efecto del consumo crónico de alcohol en combinación de bebidas energizantes sobre marcadores químico-clínicos plasmáticos funcionamiento renal.

Para demostrar si el consumo de alcohol en combinación con BE modificaba el funcionamiento renal a largo plazo, se decidió evaluar el funcionamiento renal de cada uno de los grupos experimentales. Terminado el tratamiento los animales fueron anestesiados con éter y por medio de una punción cardiaca se obtuvo muestra sanguínea para cuantificar los niveles de electrolitos (Na, K, Cl, Ca_{ionizado}, osm),

En el gráfico 5 vemos los resultados del análisis de electrolitos donde el Sodio (Fig. A) en el grupo control registró una concentración de 144.13 ± 0.74 mg/dL, el grupo alcohol presentó 138.88 ± 0.47 mg/dL, el grupo de BE obtuvo 141.37 ± 1.52 mg/dL y el grupo de alcohol + BE se registraron 144.65 ± 1.81 mg/dL. En cuanto a la concentración de Potasio (Fig. B) el grupo control obtuvo una concentración de 6.56 ± 0.13 mg/dL, el grupo alcohol mostró 7.51 ± 0.10 mg/dL, el grupo tratado únicamente con BE registro valores de 8.74 ± 0.18 mg/dL y el grupo tratado con alcohol + BE se obtuvo una concentración de 7.53 ± 0.27 mg/dL. Los resultados del Cloro (FIG. C) el grupo control obtuvo 104.88 ± 0.49 mg/dL, el grupo alcohol 103.73 ± 0.11 mg/dL, el grupo BE 105.27 ± 0.15 mg/dL y finalmente en el grupo alcohol + BE 104.65 ± 0.95 mg/dL. El Ca_{ionizado} (Fig. D) en el grupo control se obtuvo 0.86 ± 0.03 mg/dL, el grupo alcohol 0.79 ± 0.01 mg/dL, el grupo BE 0.84 ± 0.06 mg/dL y el grupo alcohol + BE 0.87 ± 0.03 mg/dL. La OSM (Fig. E) fue en el grupo control de 318.40 ± 1.37 mg/dL, en el grupo alcohol 312.96 ± 0.18 mg/dL, el grupo BE presentó 323.81 ± 3.42 mg/dL y el grupo alcohol + BE 332.17 ± 3.48 mg/dL.

El análisis comparativo de los resultados, reveló que el grupo tratado con alcohol más BE incrementa de forma significativa los niveles de Sodio (0.36%), un aumento en los valores de Potasio (14.79%), una disminución en los valores de Cloro (0.22%), además aumentaron los valores de Calcio ionizado (1.16%) y la OSM (4.32%), con respecto al grupo control.

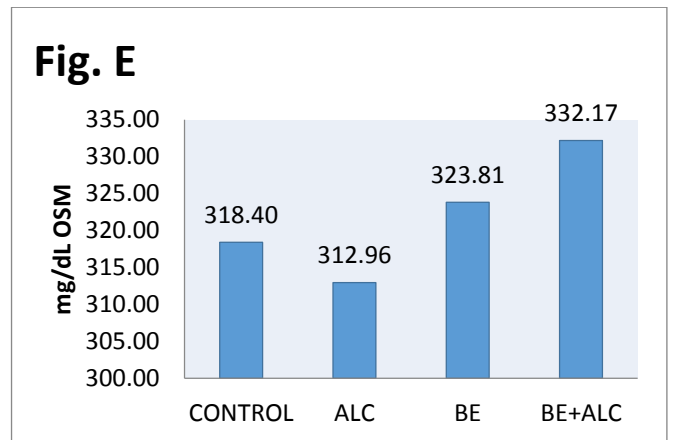
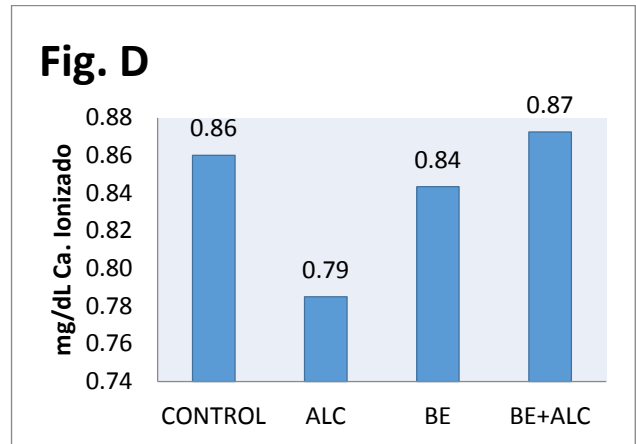
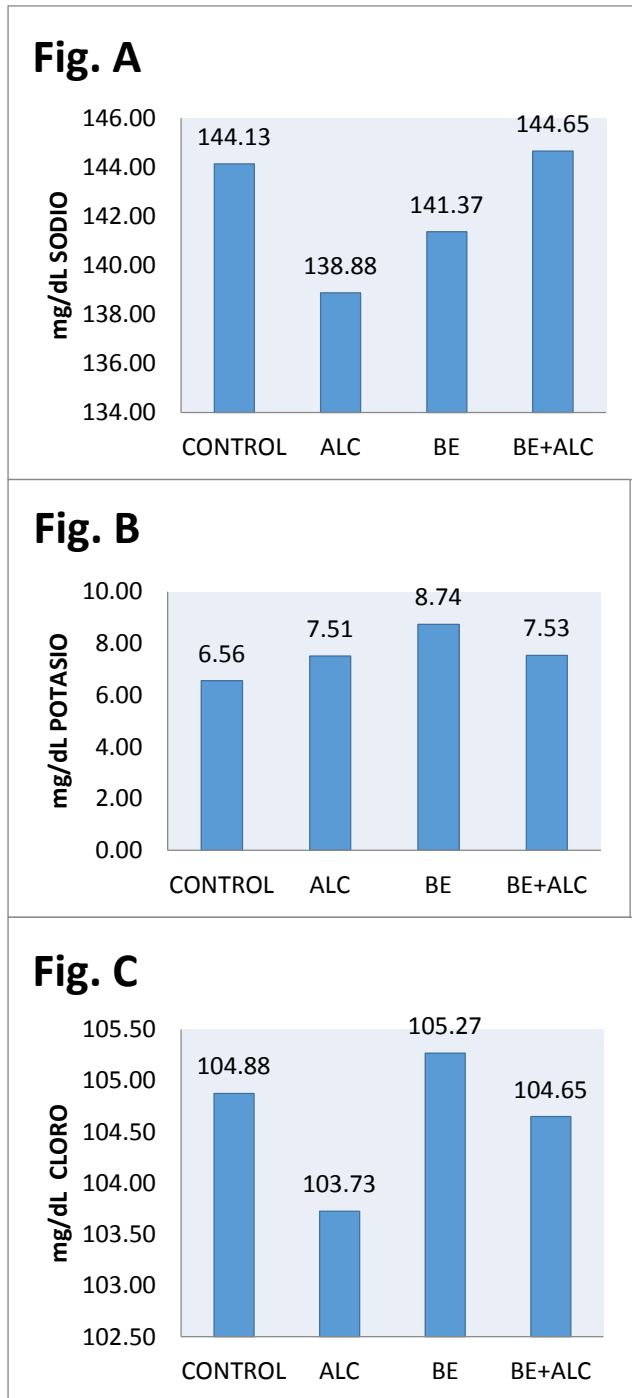


Grafico 5. Evaluación del funcionamiento renal tras el consumo crónico de bebidas energizantes en combinación con alcohol. Una vez finalizado el tratamiento se obtuvo una muestra de sangre por punción cardiaca para cuantificar la concentración de SODIO (A), POTASIO (B) CLORO (C), CALCIO IONIZADO (D) y OSM (E), por técnicas espectrofotométricas convencionales. Los datos graficados, corresponden a la media \pm ESM. (ANOVA de una vía, $*p < 0.05$).

9.3. Efecto crónico del consumo de alcohol en combinación con bebidas energizantes, sobre marcadores químico-clínicos plasmáticos pancreáticos en rata.

Para demostrar si el consumo de alcohol en combinación con BE modificaba el funcionamiento renal a largo plazo, se decidió evaluar el funcionamiento renal de cada uno de los grupos experimentales. Terminado el tratamiento los animales fueron anestesiados con éter y por medio de una punción cardíaca se obtuvo muestra sanguínea para cuantificar los niveles de glucosa, insulina y hemoglobina glicosilada (Grafico 6).

9.3.1 Efecto en el consumo crónico de alcohol en combinación con bebidas energizantes sobre los parámetros de normoglicemia en suero de rata.

Para demostrar si el consumo crónico de alcohol en combinación con BE sobre los parámetros de normoglicemia en las ratas, una vez terminado el tratamiento los animales fueron anestesiados con éter y por medio de una punción cardíaca se obtuvo muestra sanguínea para cuantificar los niveles de glucosa, insulina y hemoglobina glicosilada, además de calcular los índices HOMA-IR, HOMA-S Y HOMA- β .

En grafico 6 se comparan los resultados obtenidos de cada uno de los grupos evaluados; Glucosa (FIG. A) el grupo control (75 ± 1.25 mg/dL), en el grupo alcohol (95.18 ± 5.71 mg/dL), el grupo BE (201.9 ± 2.58 mg/dL), y alcohol + BE (172 ± 5.38 mg/dL). En la FIG. B se representan los niveles de insulina del grupo control (47 ± 2.73 mg/dL), en el grupo alcohol (26.58 ± 1.56 mg/dL), el grupo BE, (37.43 ± 2.7 mg/dL), y tratado con alcohol + BE (35.33 ± 2.41 mg/dL). Finalmente en la FIG. C, se observa el porcentaje de hemoglobina glicosilada (HbA1c), el grupo control registró $5.3 \pm 0.1\%$, el grupo de alcohol se encontró el $5.42 \pm 0.02\%$, el grupo de BE mostró el $5.7 \pm 0.1\%$ y el grupo de alcohol + BE registró un promedio de $5.65 \pm 0.06 \%$.

El análisis comparativo del grupo tratado con alcohol más BE con respecto al grupo control, se observó un incremento significativo de 129.3% en los niveles de glucosa, una disminución significativa de 24.83 % en la concentración de insulina y un aumento significativo del 6.6% en el porcentaje de hemoglobina glicosilada.

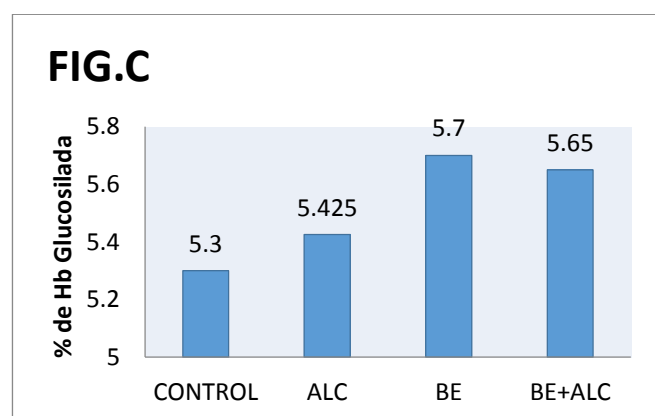
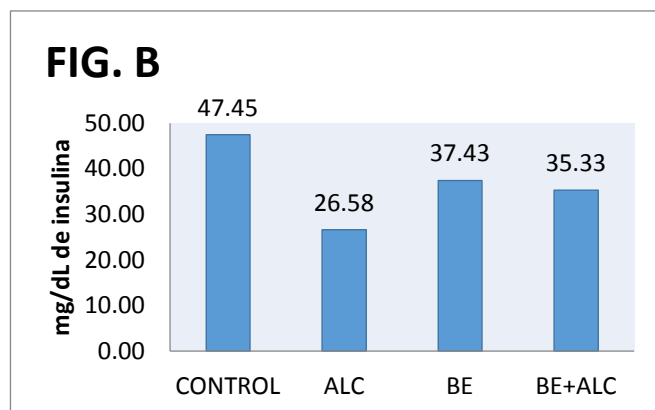
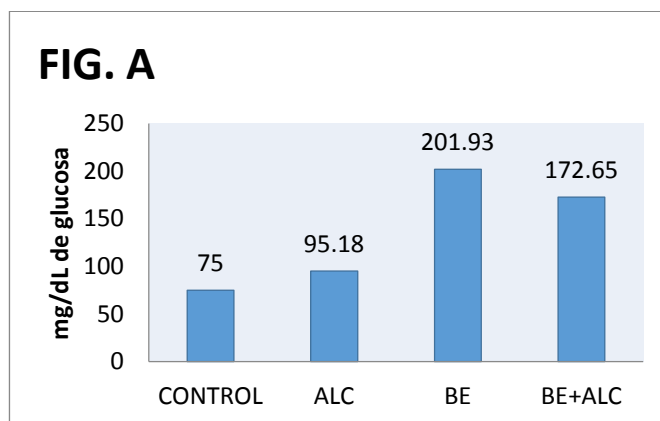


Grafico 6. Efecto en el consumo crónico de alcohol en combinación con bebidas energizantes sobre los parámetros de normoglicemia en suero de rata. Una vez que finalizó el tratamiento los animales fueron sacrificados y por punción cardiaca se obtuvo una muestra de sangre para cuantificar la concentración de glucosa **(A)**, insulina **(B)** y el porcentaje de hemoglobina glicosilada (HbA1c) **(C)**. Los datos graficados, corresponden a la media \pm ESM. (ANOVA de una vía, * $p < 0.05$).

9.3.2 Efecto en el consumo crónico de alcohol en combinación con bebidas energizantes en el cálculo del índice HOMA (IR, S y β).

La evaluación del modelo homeostático (HOMA) es un método utilizado para cuantificar la resistencia a la insulina y de las células beta función. Para demostrar si el consumo crónico de alcohol en combinación con BE modifica los valores de los índices HOMA-IR, HOMA-S Y HOMA- β .

En grafico 7 se muestran los resultados obtenidos de cada uno de los grupos evaluados; HOMA-IR (FIG. A) se muestran los resultados del grupo control (5.45 ± 0.28), en el grupo alcohol (3.38 ± 0.23), el grupo BE (5.50 ± 0.36), y alcohol + BE (5.03 ± 0.32) en el plasma de rata. El índice HOMA-S% (FIG. B) muestran los valores obtenidos por el grupo control ($18.50 \pm 0.94\%$), en el grupo alcohol ($29.98 \pm 1.96\%$), el grupo BE, ($18.33 \pm 1.27\%$), y tratado con alcohol + BE ($20.10 \pm 1.19\%$). En el índice HOMA- $\beta\%$ (FIG. C) los valores obtenidos por el grupo control fueron ($463.53 \pm 27.21\%$), en el grupo alcohol ($191.80 \pm 27.91\%$), el grupo BE, ($70.53 \pm 5.02\%$), y tratado con alcohol + BE ($86.05 \pm 6.73\%$).

El análisis comparativo del grupo tratado con alcohol más BE con respecto al grupo control, se observó disminución del 7.70% en el índice HOMA-IR, un aumento del 8.65% del índice HOMA-S% y disminuyeron los valores del índice HOMA- β un 81.44%.

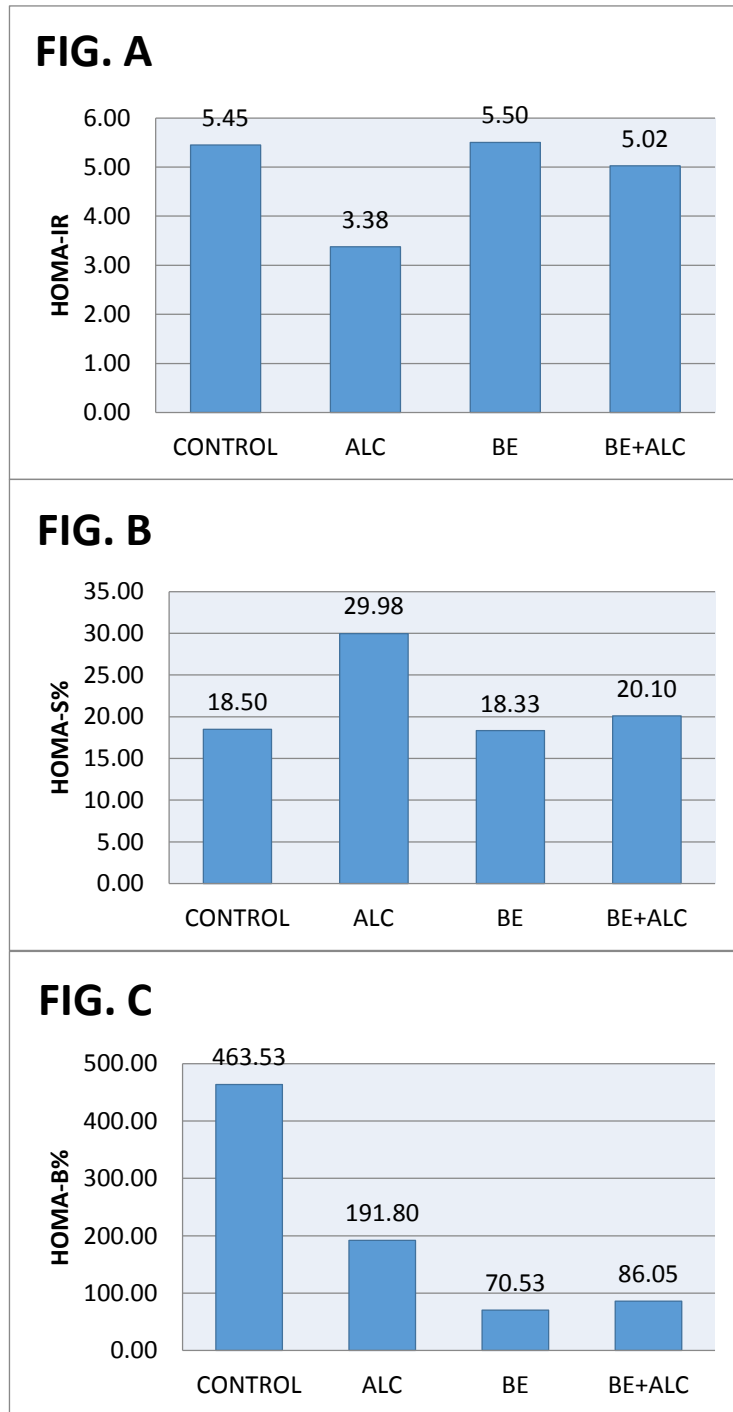


Grafico 7. Efecto en el consumo crónico de alcohol en combinación con bebidas energizantes en el calculo de los índice HOMA . Una vez que finalizó el tratamiento los animales fueron sacrificados y por punción cardiaca se obtuvo una muestra de sangre para cuantificar los valores del índice HOMA-IR **(A)**, HOMA-S% **(B)** y HOMA-β% **(C)**. Los datos graficados, corresponden a la media ± ESM. (ANOVA de una vía, *p<0.05).

9.3.3 Efecto en el consumo crónico de alcohol en combinación con bebidas energizantes en el cálculo del índice de generación de insulina, índice de disposición de insulina, así como, el índice de disfunción adipositaria por resistencia a la insulina.

El grafico 8 muestran los resultados obtenidos de cada uno de los grupos evaluados; índice de generación de insulina (FIG. A) se muestran los resultados del grupo control (0.63 ± 0.04), en el grupo alcohol (0.28 ± 0.02), el grupo BE (0.19 ± 0.01), y alcohol + BE (0.21 ± 0.02) en el plasma de rata. El índice de disposición de insulina (FIG. B) el grupo control presenta (0.34 ± 0.03), en el grupo alcohol (1.09 ± 0.04), el grupo BE, (0.03 ± 0.0), y tratado con alcohol + BE (0.04 ± 0.0). En el índice de disfunción adipositaria por resistencia a la insulina (FIG. C) los valores obtenidos por el grupo control fueron (0.12 ± 0.0), en el grupo alcohol (0.08 ± 0.01), el grupo BE (0.43 ± 0.03), y tratado con alcohol + BE (0.64 ± 0.03). Por otro lado la amilasa (FIG. D) reporta valores en el grupo control (217.65 ± 17.83), en el grupo alcohol (328.78 ± 24.42), el grupo BE, (306.70 ± 12.87), y tratado con alcohol + BE (259.60 ± 2.69).

El análisis comparativo del grupo tratado con alcohol más BE con respecto al grupo control, se observó una disminución del 66.6% en el índice de generación de insulina, una disminución del 88.23% del índice de disposición de insulina, el índice de disfunción adipositaria por resistencia a la insulina un aumento del 433% y la amilasa se presento un incremento del 19.27%.

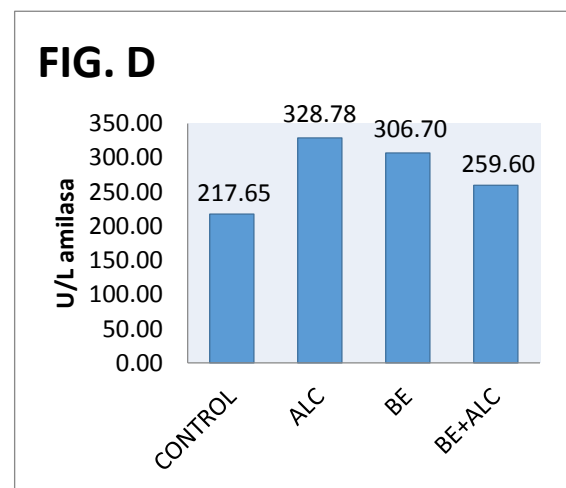
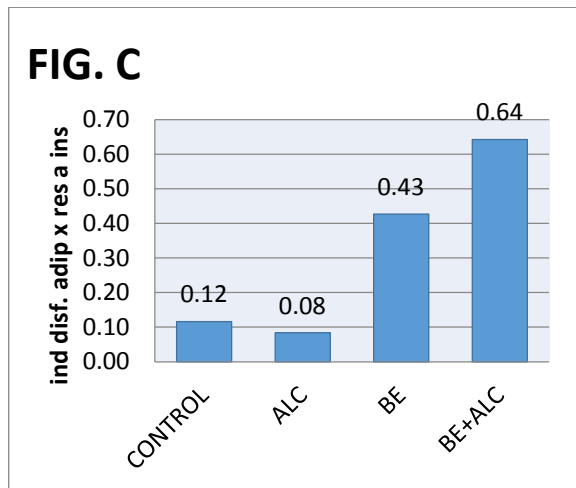
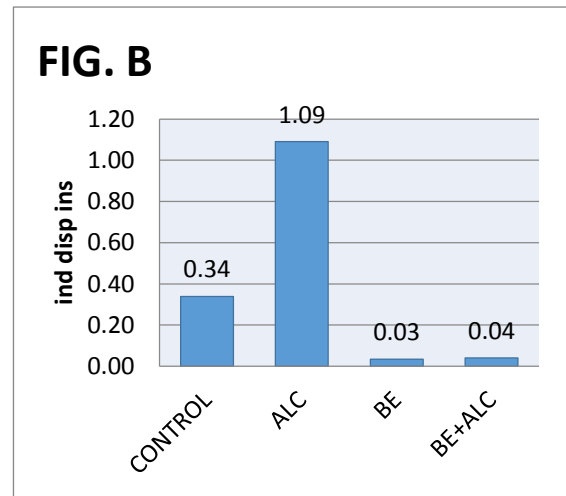
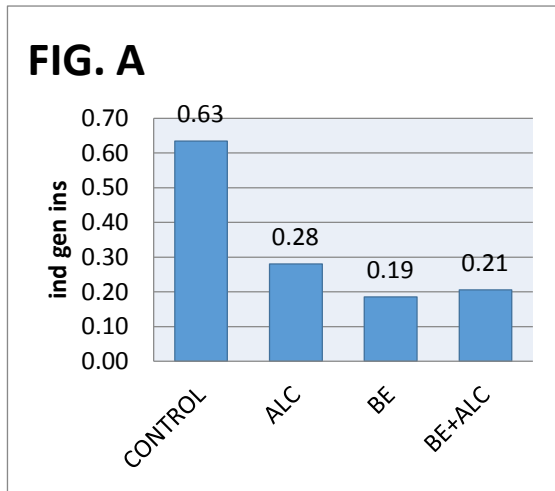


Grafico 8. Efecto en el consumo crónico de alcohol en combinación con bebidas energizantes en el cálculo del índice de generación de insulina, índice de disposición de insulina, así como, el índice de disfunción adipositaria por resistencia a la insulina. Una vez que finalizó el tratamiento los animales fueron sacrificados y por punción cardíaca se obtuvo una muestra de sangre para cuantificar los valores del índice de generación de insulina (A), índice de disposición de insulina (B), así como, el índice de disfunción adipositaria por resistencia a la insulina (C), por ultimo la amilasa (D). Los datos graficados, corresponden a la media \pm ESM. (ANOVA de una vía, * $p < 0.05$).

9.0 DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

En el presente trabajo se evaluaron marcadores químico-clínicos plasmáticos hepato-renal y pancreáticos en rata, mediante una muestra tomada por punción cardiaca, los animales de estudio fueron agrupados en 4 grupos de 4 ratas cada uno provenientes del BIOTERIO de la Universidad todos con similitud tanto en peso, cepa y sexo; contando con 3 grupos problema y un grupo control al cual se le administro Agua.

El hígado es el principal órgano que manifiesta alteraciones por el consumo de alcohol y bebidas energizantes, es el órgano que recibe directamente la sangre del intestino y utiliza los nutrientes absorbidos para cumplir numerosas funciones metabólicas. El consumo crónico de bebida energizante aporta principalmente glucosa, la cual es almacenada en forma de glucógeno o bien en triglicéridos. Es probable que el consumo crónico de alcohol más bebida energizante ocasione un cambio en la utilidad y almacenamiento de los carbohidratos y triglicéridos, debido a que por un lado el alcohol promueve la disminución de glucosa e incrementa la cantidad de triglicéridos y colesterol, mientras que las bebidas energizantes incrementan la cantidad de glucosa, insulina y la formación de glucógeno. Al comparar el grupo alcohol + BE con el grupo control, los marcadores hepato-renales mostraron mayor nivel de triglicéridos, LDL y VLDL, disminución en los valores de colesterol y niveles disminuidos de HDL. En este sentido, el alcohol más las bebidas energizantes están generando una alteración hepática, al modificar la síntesis y liberación de insulina así como de glucosa, además de incrementar los niveles de lípidos, en este sentido, es probable que exista una alteración de las enzimas hepáticas que a largo plazo puede ocasionar la falla de este órgano, como lo indican nuestros resultados.

En cuanto a las enzimas hepáticas su elevación puede reflejar daño hepático o alteración del flujo biliar, en este caso observamos solo aumentada a la GGT y disminuidas en no mas del 10% a la ALT, AST y ALKP, teniendo en cuenta que la La GGT es la unica elevada pondremos mayor atencion a ella, es la encargada de regular el transporte de aminoacidos a traves de la membrana celular al catalizar la transferrina de un grupo glutamil a los aminoacidos libres; proviene casi exclusivamente del hígado

y no producida por hueso, así, se sabe que se incrementa únicamente en la enfermedad hepática y de las vías biliares.

La insulina es una hormona que regula el nivel de glucosa en la sangre, facilitando el uso de glucosa por las células y retirando el exceso de glucosa que se almacena en el hígado en forma de glucógeno pero al existir exceso de glucosa e insulina, lo cual ocasiona la resistencia a la insulina. Vemos que el efecto crónico de la combinación de alcohol más bebidas energizantes (BE) generó en los animales un incremento de la concentración de glucosa y el porcentaje de Hb-glicosilada, por otro lado, los niveles de insulina disminuidos. Debe recordarse que el HOMA-IR es una medida de insulinoresistencia, el HOMA-%S es de insulinosensibilidad y el HOMA-%B es de β -secreción. El índice HOMA-IR da una medida de IR (o sea la inversa de la insulinosensibilidad) con un aumento de glucemia, si el HOMA-IR es constante, el %S también lo es, pero hay reducción de la β -secreción, de acuerdo a los resultados el HOMA-IR está ligeramente disminuido aparentemente “normal” por la mínima diferencia pero por otro lado hay un HOMA %B menor al necesario para mantener la euglucemia, es decir hay déficit β -secretor, y por ende se supone un daño pancreático en las células β -pancreáticas. En relación con los del índice de generación de insulina disminuido con ello nos comprueba el bajo nivel de insulina presente, de la misma forma el índice de disposición de insulina se encuentra disminuido este índice puede interpretarse como una medida de la habilidad de la célula para compensar la resistencia a la insulina, así como, el índice de disfunción adipositaria por resistencia a la insulina nos marca un aumento muy elevado en comparación con el control.

Los signos de daño en el riñón con frecuencia se encuentran en los niveles de creatinina subproducto químico de la creatina. La creatinina es un metabolito de la creatina, el cual es un nutriente útil para la generación de energía en los músculos. Esta molécula se emplea para evaluar el funcionamiento de los riñones, si la función es anormal, los niveles de creatinina se incrementan en la sangre, debido a que se elimina menos creatinina a través de la orina. Los reportes indican que el consumo crónico de alcohol genera un incremento de la creatinina y ácido úrico, por otra parte el consumo de altas cantidades de azúcar pueden afectar la filtración glomerular, ya que activan

mecanismo de estrés oxidativo e inflamación generando a largo plazo la disfunción renal, incrementando la creatinina y la urea. Lo que es compatible con las alteraciones típicas de la enfermedad renal crónica misma que se corrobora con el aumento de la creatinina ya que es considerada un marcador de la IRC. La hipertrigliceridemia en la enfermedad renal crónica es evidenciada por el aumento de lipoproteínas ricas en triglicéridos como las VLDL que en este estudio vimos ligeramente aumentadas. ^{Sociedad}
Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2009

Por otra parte, al existir un exceso de glucosa hace reacción con la hemoglobina de los glóbulos rojos formando un compuesto que se conoce como hemoglobina glicosada o hemoglobina A1c (HbA1c). El valor de HbA1c está directamente relacionado con el advenimiento de las complicaciones crónicas que se pueden presentar en la diabetes y que son consecuencia de la hiperglucemia mantenida (26,27,28), es decir que con este ensayo de podemos valorar el control metabólico.

11.0 CONCLUSIONES

El consumo crónico de la combinación de alcohol y de las bebidas energéticas genera alteraciones metabólicas en los lípidos y carbohidratos, los cuales a largo plazo repercuten en la función renal y hepática. En vista de la escasez de datos sobre la seguridad y eficacia de la bebida energética sola o en combinación con alcohol, es importante tomar en cuenta los resultados del presente trabajo, con la finalidad de prevenir eventos metabólicos que afecten la calidad de vida de las personas.

El hígado es el principal órgano que manifiesta alteraciones por el consumo de alcohol y bebidas energizantes, es el órgano que recibe directamente la sangre del intestino y utiliza los nutrientes absorbidos para cumplir numerosas funciones metabólicas.

En este sentido, nuestros resultados sugieren que el consumo crónico de alcohol y bebidas energizantes, en donde la eficiencia de la filtración disminuye y se pierden proteínas importantes de la sangre por la orina. Esto en consecuencia genera la liberación de altas cantidades de urea y creatinina.

En consecuencia, todos estos eventos afectaron a largo plazo el funcionamiento hepato-renal y pancreático. Esto demuestra que el consumo de alcohol más bebidas energizantes tiene repercusiones en el funcionamiento de estos órganos a largo plazo en los animales.

12. PERSPECTIVAS

Con la experiencia de este trabajo se hacen algunas sugerencias para poder ampliarlo o bien darle secuencia, a fin de, poder proporcionar mejores resultados sobre el daño hepático, renal y pancreático que esta combinación ocasionaría en las ratas; a su vez ya con resultados científicos basados en experimentación suponer los daños que producirán en el organismo humano.

Se sugiere lo siguiente:

- ✓ Ampliar el tiempo de estudio de 3 meses a 6 meses ya que el hecho de que las enzimas pancreáticas se encuentran ligeramente disminuidas, no descartamos el que en un poco tiempo se disparen y evidencien el daño hepático total.
- ✓ Relacionarlo con cortes histopatológicos para observar y relacionar el daño causado a los órganos, a nivel tejido y en los marcadores químico-plasmáticos.
- ✓ Realizar el estudio de depuración de proteínas para evaluar que proteínas se están filtrando y perdiendo, por el daño glomerular que la combinación de alcohol mas bebidas energizantes han causado.
- ✓ El abuso de estas sustancias no solo daña a estos órganos, sino que afecta a varios más, entre ellos el corazón y cerebro órganos también vitales, podría evaluarse el daño que la combinación de estas sustancias causa en ellos.

Este trabajo bien podría ayudar a las estadísticas para darnos cuenta de una muestra poblacional, cual es el porcentaje de daño y que tanto afecta a los diversos órganos.

13.0 BIBLIOGRAFIA:

- 1.- ¿QUÉ ES UNA BEBIDA ENERGIZANTE?(s.f.), Recuperado el 26 de mayo 2015 de:<http://www.prevenissste.gob.mx/abuso-sustancias/que-es-una-bebida-energizante-riesgos-salud#ancla>
- 2.- Barlow, 2001; citado por Gantiva, Trujillo, Gómez, & Martínez, 2007
- 3.- Gantiva, C. Trujillo, A. Gómez, W. & Martínez, A. (2007). Actitudes hacia el consumo de cocaína y marihuana en estudiantes universitarios.
- 4.- Psychologia. Avances de la disciplina. 1, 2, 61-81.
- 5.- Ramón Estruch. Servei; *Efectos del alcohol en la fisiología humana*; Barcelona.
- 6.- Martha Melgarejo; (2004); "El verdadero poder de las bebidas energéticas Revista Énfasis Alimentación".
- 7.- Dr. Manuel Segundo Ramírez Sánchez; Dra. Elsa Ysmelia Gutiérrez Reyes. *ABUSO DE DROGAS*.
- 8.- J. Whitfield and N. G. Martin; (1994); *Alcohol Consumption and Alcohol Pharmacokinetics: Interactions Within the Normal Population*; ALCOHOLISM: CUSICAL AND EXPERIMEI'o"TAL REsEARCH.
- 9.- M. Sánchez Turet (*), Inmaculada C. Clemente; *Genética del Alcoholismo: Asociación con Marcadores Biológicos*; Universidad De Barcelona.
- 10.- Miguel Cote Menéndez, Claudia Ximena Rangel Garzón, Marlib Yolima Sánchez Torres, Adalbeis Medina Lemus; (2011); *BEBIDAS ENERGIZANTES: ¿HIDRATANTES O ESTIMULANTES?*
- 11.- José L. Góngora-Alfaro, Rosa E. Moo-Puc, Jairo Villanueva Toledo, Gloria Arankowsky-Sandoval, Fernando. Álvarez-Cervera, Juan C. Pineda-Cortés, Francisco J. Heredia-López, José L. Bata-García; (2005); *La cafeína y los antagonistas de los receptores A_{2A} de la adenosina como posibles adyuvantes de la terapia anticolinérgica en la enfermedad de Parkinson* ;Unidad Biomédica, Universidad Autónoma de Yucatán, Av. Itzaes No. 490 x calle 59, C.P. 97000, Mérida, Yucatán, México.
- 12.- Grace E. Giles, Caroline R. Mahoney, Tad T. Brunyé, Aaron L. Gardony, Holly A. Taylor, Robin B. Kanarek;(2012); *Differential cognitive effects of energy drink ingredients: Caffeine, taurine, and glucose*; Department of Psychology, Tufts University, Medford MA 02155, USA

- 13.- Goodman & Gilman; *Las bases farmacológicas de la terapéutica*; décima edición
- 14.- Elisa Cristina Baltrons Villeda y Nilson Alberto Bernal Rajo;(2010); *Determinación del contenido de cafeína presente en Bebidas energizantes comercializadas en el área Metropolitana de san salvador*; San Salvador, el Salvador, Centro América
- 15.- N Gómez, J Herrero y J Quiroga; LA NUTRICIÓN EN EL ENFERMO HEPÁTICO; pág. 499.
- 16.- Sionaldo Eduardo Ferreira, Marco Túlio de Mello, Marcio Vinicius Rossi, and Maria Lucia O. Souza-Formigoni; (2004) ; *Does an Energy Drink Modify the Effects of Alcohol in a Maximal Effort Test?; Alcoholism: Clinical And Experimental Research* Bebidas energéticas
- 17.- Cristiane Tavares y Rioko Kimiko Sakata;(2012); *Cafeína para el Tratamiento del Dolor*; Revista Brasileira de Anestesiología
- 18.- Ricardo Pardo Lozano; Yolanda Alvarez García; Diego Barr al Tafall a; Magí Farr y Alb aladejo ; *Cafeína: un nutriente, un fármaco, o una droga de abuso*; Universidad Autónoma de Barcelona.
- 19.- EBSCO Publishing. All rights reserved;(2012); *Hierbas y Suplementos: Taurina*.
- 20.- M.^a ELENA GARCÍA-VALDECASAS CAMPELO; Osteopatía del paciente alcohólico;(2004) ;Pág. 10-1214
- 21.- Climent, B.; Gago, N.; Llerena, G.; González, V; Patología médica asociada al consumo perjudicial de alcohol; pág. 185-244.
- 22.- Tomás Giraldo Prado López , Juleiky García Beracieto, Liete Yainer García Beracieto, Tomás José Rodríguez Martín ; Alcohol y enfermedades; http://bvs.sld.cu/revistas/mciego/vol14_supl1_08/revisiones/r6_v14_supl108.htm
- 23.- N Gómez, J Herrero y J Quiroga; LA NUTRICIÓN EN EL ENFERMO HEPÁTICO; pág. 499.
- 24.- Alejandro Rebolledo, Veronica Milesi, Gustavo Rinaldi, Angela Grassi; efectos de la insulina sobre la respuesta contráctil y la captacion de calcio en

aorta de rata; medicina - Volumen 56 - N° 6, 1996:
<http://www.medicinabuenaosaires.com/revistas/vol56-96/6/insulina.htm>

- 25.- Zaroyda Urzua Garcia; Efecto crónico de la cafeína sobre el nivel y tolerancia a la glucosa en ratas sanas y con BM experimental; COLIMA, COLIMA, FEBRERO DE 2011.
- 26.- Benjamín Climent Díaz, Marta C. Cancino Botello y Anka Dragoi: Bebidas energizantes; Unidad de Toxicología Clínica. Servicio Medicina Interna. C. Hospital General Universitario de Valencia; Recibido: 23/09/2013- Aceptado: 15/11/2013.
- 27.- Adriana Montealegre Pomar, MD; Hiperglicemia Neonatal;
- 28.- Pablo Olmos, Andrea Araya-Del-Pinoa, Cristián González, Pablo Laso, Verónica Iribarra, Lorena Rubio; Fisiopatología de la retinopatía y nefropatía diabéticas; Rev. méd. Chile v.137 n.10 Santiago oct. 2009
- 29.- Martha Patricia Reyes Ramírez,* José Antonio Morales González; Diabetes. Tratamiento nutricional; Med Int Mex 2009.