

EFFECTO DE LA BEBIDA GASIFICADA EN LA PARED GÁSTRICA DE RATAS MACHO CON GASTRITIS INDUCIDA POR ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

Alejandro Martinez^{1a}, Katia Bravo^{1a}, Saúl Gonzales^{1a}, Diana Lecca^{1a}, Melissa Mendoza^{1a},
Melissa Paragua^{1a}, Isabel Pinedo^{1a}, Luis Ramos^{1,2a}, Miriam Salcedo^{1b}, Diana Torpoco^{1a},
Yao-Te Wang^{1a}, Ernesto Ráez^{1c}

¹ Facultad de Medicina de San Fernando. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

^a Médico-cirujano

^b Interna de Medicina

^c Doctor en Medicina

CIMEL 2011; (14)1:21-25

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto del consumo prolongado de una bebida gasificada sobre la pared gástrica de ratas con gastritis inducida por ácido acetilsalicílico. **Métodos:** Estudio experimental. Participantes: ratas macho de 3,5 meses de edad. Intervenciones: Se indujo gastritis mediante la administración oral diaria de 300 mg/kg de ácido acetilsalicílico, en solución con agua (grupo control) o bebida gasificada (grupo experimental). Luego de tres semanas se evaluaron las alteraciones histopatológicas sobre la pared gástrica. Principales resultados: Se utilizó la Puntuación de Lapa modificada para el análisis macroscópico, comparándose los resultados mediante la Prueba U de Mann-Whitney ($p < 0,05$). Se midió la profundidad de las lesiones microscópicamente, analizándose los resultados con la Prueba T de Student bilateral ($p < 0,05$). **Resultados:** En ambos casos, las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p = 0,009$ y $p < 0,001$, respectivamente), encontrándose lesiones de mayor magnitud en el grupo experimental. **Conclusiones:** El consumo prolongado de bebida gasificada tiene un efecto agravante del daño producido en la pared gástrica de ratas con gastritis inducida por ácido acetilsalicílico. *Palabras Clave:* bebida, gastritis, ácido acetilsalicílico.

EFFECT OF THE CARBONATED BEVERAGE IN THE GASTRIC MUCOSA OF MALE RATS WITH ACETYLSALICYLIC ACID-INDUCED GASTRITIS

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effects caused by a prolonged consumption of carbonated beverage in rats with acetylsalicylic acid-induced gastritis. **Methods:** An incomplete experimental study was developed. Participants: male rats. Methods: Gastritis was induced by the daily oral administration of 300 mg/kg of acetylsalicylic acid diluted in water in the control group and in carbonated beverage in the experimental group. After three weeks, histopathologic characteristics in the gastric mucosa were evaluated. Main measures outcome: Macroscopic damage was measured with the modified Lapa's score, which results were compared with Mann Whitney U Test ($p < 0.05$). Microscopic damage was also observed and its depth was measured, the obtained data were analyzed with the bilateral T test ($p < 0.05$). **Results:** In both cases, the results were significant statistically ($p = 0.009$ y $p < 0.001$, respectively). They showed that the gastric mucosa injury caused in the experimental group was more severe than in the control group. **Conclusion:** The prolonged consumption of carbonated beverage has an aggravating effect in the gastric mucosa of rats with acetylsalicylic acid-induced gastritis. *Keywords:* carbonated beverage, gastritis, acetylsalicylic acid.

INTRODUCCIÓN

Las bebidas gasificadas son consumidas por millones de personas diariamente; en nuestro país se consume aproximadamente 42,5 litros por habitante al año¹. A pesar de que existe el conocimiento popular de que su ingesta diaria produce afecciones al aparato digestivo, son muy pocas las investigaciones científicas acerca de ello. En la historia de las bebidas gasificadas existen sucesos que incitan a investigar los efectos de sus componentes. En Europa, en 1999, la multinacional Coca Cola tuvo que retirar del mercado varios millones de sus productos al comprobarse que contenían un exceso de CO₂, hecho que provocó la intoxicación de varias personas

en Bélgica². Las bebidas gasificadas son muy ácidas (tienen un pH de 2,47). Estudios realizados afirman que la ingesta de alimentos y bebidas ácidos causa gingivitis, glositis, erosión dental, esofagitis, osteoporosis, litiasis renal, hipocalcemia, asma, incremento de riesgo cardiovascular, obesidad, hipertensión arterial, desórdenes de conducta, hiperactividad e inclusive neoplasias³⁻¹⁸. Este problema tiene impacto en la salud pública debido a los probables efectos dañinos que implicaría el consumo de bebidas gasificadas, especialmente en poblaciones susceptibles como los pacientes que padecen gastritis. Ante la falta de investigaciones y la trascendencia del tema surge la motivación de estudiarlo en un modelo experimental.

El objetivo de este estudio es evaluar las alteraciones histopatológicas a nivel macroscópico y microscópico producidas por el consumo prolongado de bebidas gasificadas en la pared gástrica de ratas con gastritis inducida por ácido acetilsalicílico.

MATERIALES Y METODOS

Estudio de tipo experimental aleatorizado incompleto. Se utilizaron 39 ratas macho (*Rattus norvegicus*) de 3,5 meses de edad, con 280 + 10 g de peso, adquiridas en el Instituto Nacional de Salud (INS). La dieta diaria para todas las ratas consistió en 25 g de alimento para ratas, y agua o gaseosa dependiendo del grupo asignado. Se utilizó la bebida gasificada Coca-Cola®, debido a que es utilizada en todos los estudios de nuestra revisión bibliográfica.^{6,8,12,18}

Estudio piloto:

Se realizaron dos pruebas piloto para determinar la dosis de ácido acetilsalicílico necesaria para inducir gastritis en ratas. En la primera prueba piloto se utilizaron ocho ratas macho (*Rattus norvegicus*); se formaron cuatro grupos que recibieron dosis interdiarias de ácido acetilsalicílico distintas para cada uno, las cuales fueron de 50 mg/kg, 25 mg/kg, 10 mg/kg y 5 mg/kg diluidas en 20mL de agua, respectivamente. La duración de la prueba piloto fue de nueve días, posteriormente, se procedió a sacrificar a los animales y observar macroscópicamente el estómago sin observarse lesión alguna en todas las dosis empleadas, por lo que se decidió realizar una nueva prueba piloto para encontrar la dosis adecuada. La segunda prueba piloto fue realizada con diez ratas macho (*Rattus norvegicus*) que fueron separadas en cinco grupos y recibieron las siguientes dosis de ácido acetilsalicílico: 100 mg/kg, 150 mg/kg, 200 mg/kg, 250 mg/kg, 300mg/kg. Luego de analizar los resultados obtenidos se concluyó que la dosis ideal para inducir gastritis era de 300 mg/kg diarios administrados por vía oral usando bebederos milimetrados.

Estudio experimental:

Las ratas fueron separadas en dos grupos de diez ratas cada uno de manera aleatoria. Un grupo recibió agua (grupo control o grupo A) y el otro gaseosa (grupo experimental o grupo G) desde el inicio de la experimentación (25 ml de agua o gaseosa al día por rata). Todas las ratas, independientemente del grupo al que pertenecían recibieron la misma alimentación (25 g de alimento balanceado) y dosis de ácido acetilsalicílico (300 mg/kg).

El estudio experimental duró 28 días. A continuación, se procedió al sacrificio de los animales, la extracción de estómagos y la fijación de los mismos.

Recolección y análisis de datos:

La extracción¹⁹⁻²¹ se realizó según el método siguiente: en primer lugar se ligó el píloro y el esófago, para proceder luego a retirar el estómago. Éste fue abierto por la curvatura mayor, lavado en solución salina, extendido sobre una base plana y fijado en formol al 10%. Los estómagos fueron escaneados conservando los tamaños reales. Se cuantificaron las lesiones macroscópicas en el programa Corel Draw v. 12.0 mediante el uso de cuadrículas de 0,5 mm de lado, aplicando la Puntuación de Lapa modificada, la cual evalúa el tipo (hemorrágica o no hemorrágica) y la extensión de las lesiones²². Para el análisis de las lesiones a nivel microscópico se obtuvieron láminas coloreadas con hematoxilina-eosina a partir de las dos lesiones más notables de la pars glandularis de cada estómago, y se midió la profundidad de todas las lesiones observadas mediante el uso de un ocular con reglilla milimetrada y un microscopio monocular. Los datos fueron ingresados a una base de datos en el programa Microsoft Office Excel 2003 y analizados en el programa SPSS v. 13.0.

RESULTADOS

Análisis histopatológico

En el grupo control se logró observar erosión superficial, descamación de la mucosa gástrica y congestión vascular a nivel de las capas mucosa y submucosa. En un reducido número de cortes se evidenció la presencia de algunos macrófagos en la capa mucosa (Figura 1). En el grupo experimental se observó gastritis erosiva con presencia de infiltración por macrófagos y linfocitos, descamación epitelial extensa, congestión vascular en las capas mucosa y submucosa, hipertrofia e hiperplasia glandular, y atrofia de la mucosa gástrica en algunos casos (ver Figura 2, 3, 4).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se consideró un valor de $p < 0,05$ y se utilizó el programa SPSS v.13.0. Los valores obtenidos mediante la puntuación de Lapa modificada fueron comparados mediante la prueba U de Mann Whitney, reportándose diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de ratas que consumió bebida gasificada y el que consumió agua. ($p=0.009$). (Ver gráfico 1)

Figura 1. Rata del Grupo A. Obsérvese la congestión de vasos sanguíneos y el infiltrado de macrófagos en la mucosa gástrica. Coloración Hematoxilina-eosina, 400X.

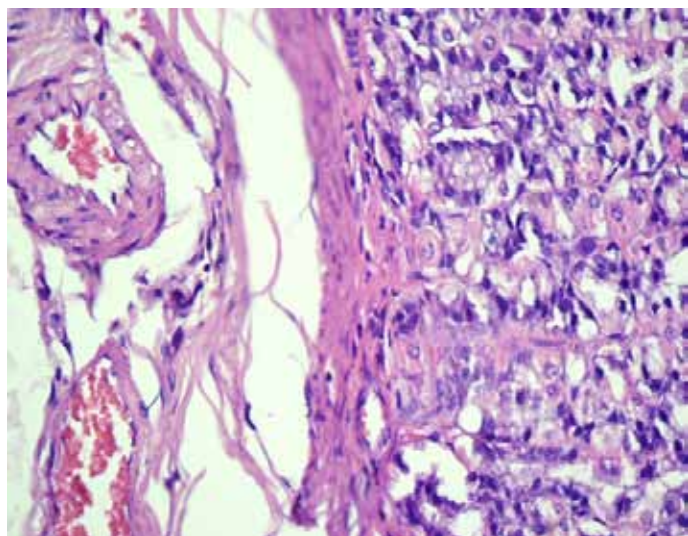


Figura 2. Se observa gastritis erosiva con gran pérdida de epitelio y desorganización de la mucosa. Nótese además la gran congestión vascular. Coloración Hematoxilina-eosina, 100X

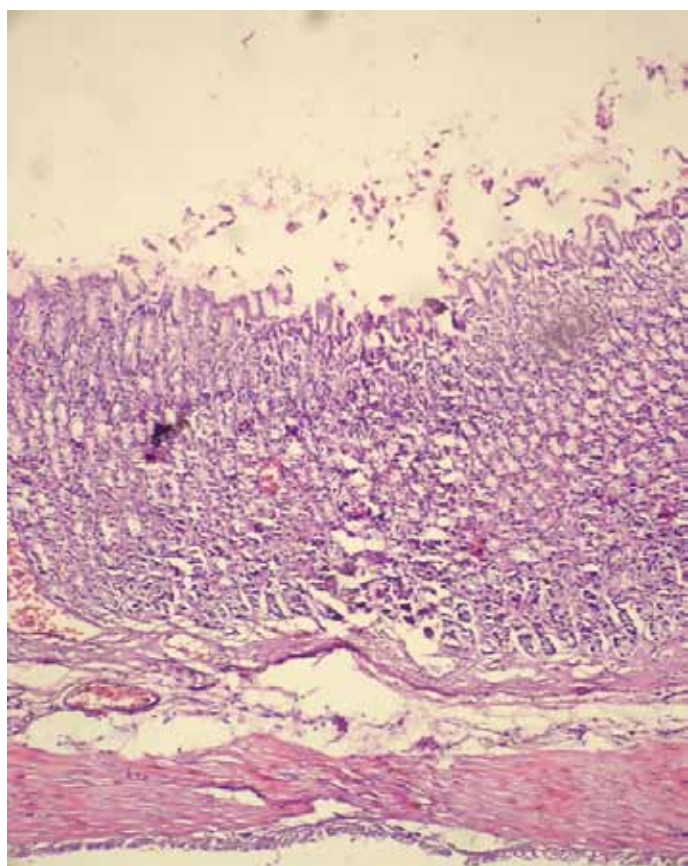


Figura 3. Rata del grupo G. Se observa atrofia de la mucosa gástrica. Coloración Hematoxilina-eosina, 50X.

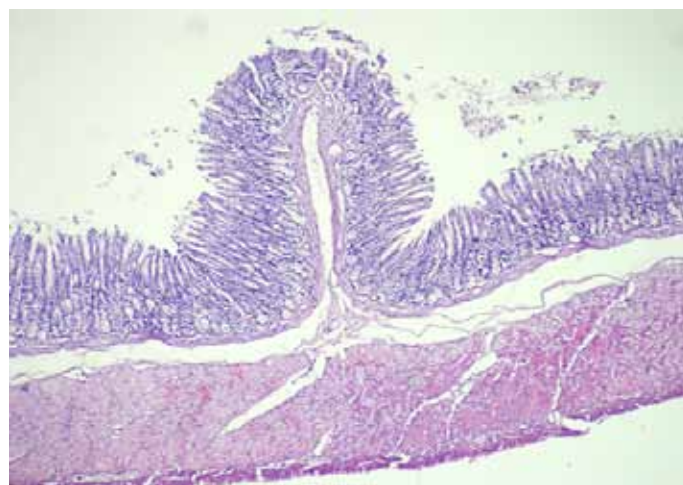
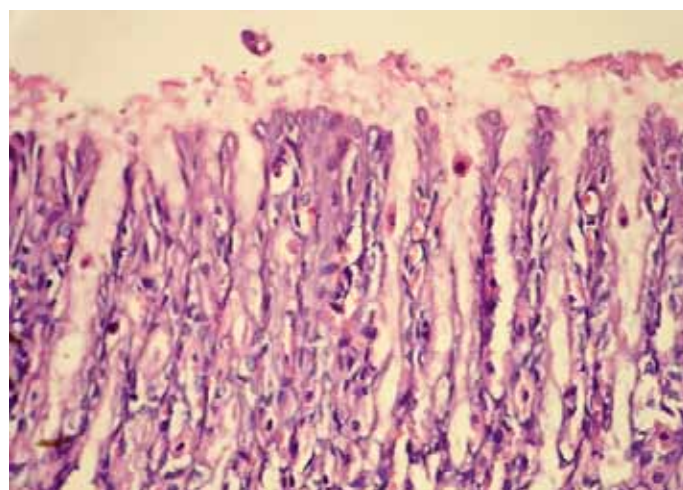


Figura 4. Rata del Grupo G. Obsérvese la producción de moco y la presencia de macrófagos. Coloración Hematoxilina-eosina, 400X



DISCUSIÓN

El presente estudio demostró que tanto las lesiones macroscópicas como microscópicas fueron significativamente mayores en las ratas sometidas al consumo de bebida gasificada. El objetivo fue probar el efecto del consumo prolongado de gaseosa, para lo cual era idóneo el consumo de la bebida por amplios periodos; sin embargo se utilizó ácido acetilsalicílico para reducir el tiempo en el que se pudiese evidenciar un efecto nocivo causado por la bebida gasificada.

Los métodos para inducir gastritis aguda emplean diversos fármacos, entre los cuales destacan los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) (23-25), cuyo compuesto prototípico es el ácido acetilsalicílico (ácido acetilsalicílico

Gráfico 1. Lesiones macroscópicas evaluadas mediante Puntuación de Lapa modificada

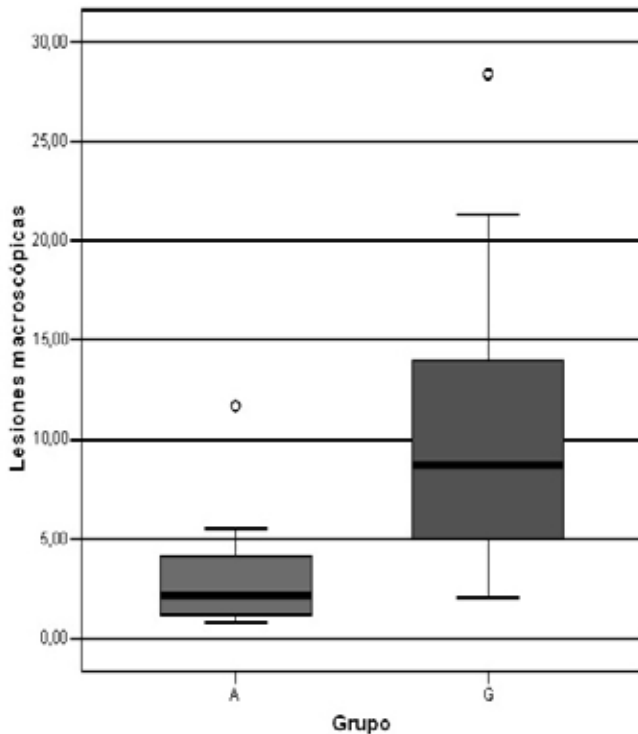
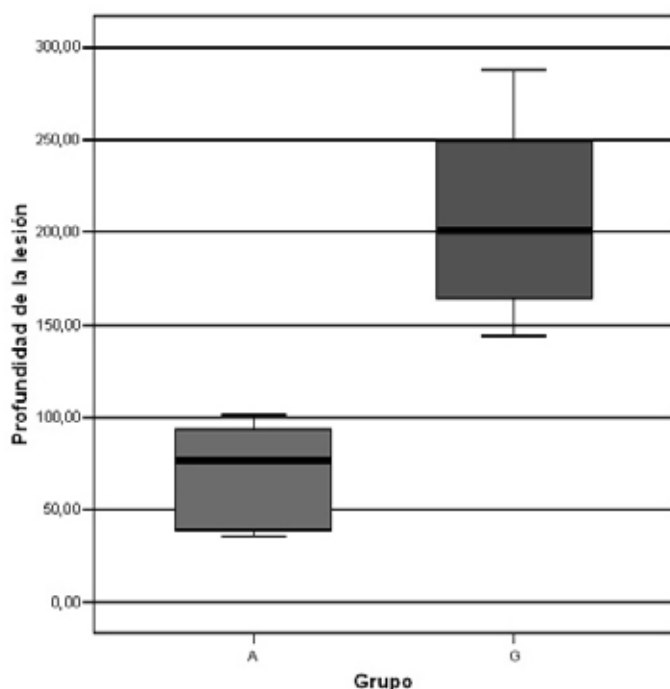


Gráfico de cajas que evalúa las lesiones macroscópicas en la mucosa gástrica de las ratas. (A) Grupo control. (G) Grupo experimental. La dispersión de los datos y la mediana son mayores en el grupo experimental. Se evidencia la presencia de outliers en ambos grupos.

Gráfico 2. Lesiones microscópicas evaluadas mediante la medición de la profundidad de la lesión.



co). Otros fármacos utilizados son: hidrocortisona (26), butadiona (27), taurocolato/ácido clorhídrico (28), indometacina (29), etanol (30) y salicilato de sodio en dosis terapéuticas (31), entre otros. La mayoría de estos estudios indican la dosis requerida para inducir gastritis aguda en ratas; sin embargo, el diseño de nuestra investigación necesitaba encontrar la dosis adecuada para inducir gastritis crónica. Con tal propósito, se realizaron dos pruebas piloto, lográndose determinar la dosis ideal para nuestro objetivo, siendo ésta de 300 mg/kg de ácido acetilsalicílico por vía oral, referencia que consideramos un gran aporte para futuras investigaciones.

A pesar de que en la mayoría de estudios revisados se utiliza cánula para administrar los fármacos por vía oral, en nuestro estudio experimental se emplearon bebederos milimetrados, ya que el uso de cánula está indicado en la administración de dosis única en ratas y no en la de dosis diarias en forma prolongada; además suponía un mayor estrés e injuria en el tracto orofaríngeo de las ratas, pudiendo así invalidar el estudio.

El mecanismo por el cual la bebida gasificada produce gastritis es desconocido, sin embargo, algunos estudios mencionan que el pH ácido (2,47) y el ácido fosfórico pueden jugar un rol importante (3, 4, 6, 7, 10).

Se concluye que en el grupo experimental presentó lesiones de la pared gástrica de mayor magnitud en comparación con el grupo control. En conclusión, se demuestra el efecto agravante del consumo de gaseosa sobre la gastritis inducida por administración continua de ácido acetilsalicílico.

AGRADECIMIENTOS

A los docentes David Díaz Leyva, Salomón Ayala Pío, Jack Ávila Velásquez, Yelitz Bravo Mendoza, Nery Romero Rojas, César Gutiérrez Villafuerte, Julio Paz Castillo, Martha Martina Chávez, Silvia Suárez Cunza y Marco Núñez Fonseca.

Correspondencia:

Alejandro Martínez Herrada

patoexp06@gmail.com

Jr. Raymundo Cárcamo 924. Lima 13. Perú

Recibido: 07-05-2012

Aprobado: 10-07-2012

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Boletín de estadísticas ocupacionales. Ministerio del Trabajo y Promoción del Empleo, Programa de estadísticas y estudios laborales. IV Trimestre 2,002. Disponible en: http://www.mintra.gob.pe/archivos/file/estadisticas/peel/beo/BEO2002-IV_8.pdf
2. Nemery B, Fischler B, Boogaerts M, Lison D, Willems J. The Coca-Cola incident in Belgium, June 1999. *Food Chem Toxicol.* 2002;40(11):1657-67.
3. Amato J, Maravilla A, García-Contreras F, Paniagua R. Los refrescos y la salud. *Rev Invest Clin.* 1997;49(5):387-395.
4. Vartanian LR, Schwartz MB, Brownell KD. Effects of soft drink consumption on nutrition and health: a systematic review and meta-analysis. *Am J Public Health.* 2007;97:667-675.
5. Tahmassebi JF, Duggal MS, Malik-Kotru G, Curzon ME. Soft drinks and dental health: a review of the current literature. *J Dent.* 2006;34(1):2-11.
6. Holloway PJ, Mallenbay M, Steward RJC. Fruit drinks and tooth erosion. *Br Dent.* 1985;104:305-9.
7. Bartlett DW, Anggiansah A, Owen W, Evans DF, Smith B. Dental erosion: a presenting feature of gastro-oesophageal reflux disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1994;12:895-900.
8. Roos EH, Donly KJ. In vivo dental plaque pH variation with regular and diet soft drinks. *Pediatr Dent.* 2002;24(4):350-3.
9. Maurman JH, Frank RM. Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. *Carries Res.* 1991;25:81-7.
10. Kapıcıoğlu S, Baki AH, Tekelioğlu Y, Araz K. The effect of cola consumption on oral mucosa in rats. *Dis Esophagus.* 2000;13(1):69-71.
11. Koufmann JA. The otolaryngologic manifestations of gastroesophageal reflux disease (GORD): a clinical investigation of 225 patients using ambulatory 24 hour pH monitoring and an experimental investigation of the role of acid and pepsin in the development of laryngeal injury. *Laryngoscope* 1991;101:1-78.
12. Lien L, Lien N, Heyerdahl S, Thoresen M, Bjertness E. Consumption of Soft Drinks and Hyperactivity, Mental Distress, and Conduct Problems Among Adolescents in Oslo, Norway. *Am J Public Health.* 2006;96(10):1815-20.
13. Hellstrom. Oral complications in anorexia nervosa. *Scand J Dent Res.* 1997;85:71-86.
14. James J, Thomas P, Cavan D, Kerr D. Preventing childhood obesity by reducing consumption of carbonated drinks: cluster randomised controlled trial. *BMJ.* 2004;328:1237.
15. Harper A, James A, Flint A, Astrup A. Increased satiety after intake of a chocolate milk drink compared with a carbonated beverage, but no difference in subsequent ad libitum lunch intake. *Br J Nutr.* 2007;97(3):579-83.
16. Frequent soft drink consumption may increase heart disease risk. *Mayo Clin Womens Healthsource.* 2007;11(12):3.
17. Dhingra R 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(5):480-8.
18. Belpoggi F, Soffritti M, Tibaldi E, Falcioni L, Bua L, Trabucchi F. Results of long-term carcinogenicity bioassays on Coca-Cola administered to Sprague-Dawley rats. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1076:736-52.
19. Ayala, S. Díaz, D. Efecto Protector de Croton palanostigma y Aloe vera frente a Injurias Agudas de Mucosa Gástrica inducida por Etanol en Ratas. *Ana. Med.* 1999;60(1).
20. Ayala, S. Díaz, D. Efecto protector de Phthirusa pyrifolia y Croton palanostigma sobre lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas. *Ana. Med.* 2000;8(16).
21. Ayala, S. Díaz, D. Efecto protector de látex desecado y fracción alcaoloidea de Croton palanostigma frente a injuria de mucosa gástrica. *Ana. Med.* 2001;62(4):317-324.
22. Lapa, A. Métodos de evaluación de la actividad farmacológica de las plantas medicinales. Programa Iberoamericano de Ciencia e Tecnología para el Desarrollo. 2002.
23. Frisancho O. Gastropatía por antiinflamatorios no esteroideos. *Enferm. apar. dig.* 1998;1(4).
24. Aron E. Las Hemorragias Digestivas producidas por la Aspirina. Ventajas del Acetilsalicilato de Lisina. *Thérapie.* 1976;31:247-256.
25. Makau Lee; Byron Cryer; and Mark Feldman. Dose Effects of Aspirin on Gastric Prostaglandins and Stomach Mucosal Injury. *J Clin Gastroenterol.* 1994;120(3):184-189.
26. Krylov IA, Buiuklinskaia OV, Uteshev DB, Shashkina MIa. Gastroprotective effect of lycopene in acute gastritis induced by hydrocortisone. *Eksp Klin Farmakol.* 2002;65(3):19-21.
27. Buiuklinskaia OV, Khodasevich LS, Krylov IA. Preventive effect of carotene-containing preparations in acute gastritis model. *Eksp Klin Farmakol.* 2001;64(1):53-6.
28. Katoh Y, Tanaka M, Kawashima H. Protective effects of teprenone and gefarnate against taurocholate/hydrochloric acid-induced acute gastric mucosal lesions in rats. *Nippon Yakurigaku Zasshi.* 1998;112(5):323-31.
29. Habib A, Mullick MH, Begum HA. Histomorphological study of indomethacin induced gastrointestinal lesions in rat. *Bangladesh Med Res Counc Bull.* 1993;19(3):94-8.
30. Szabo S, Goldberg I. Experimental pathogenesis: drugs and chemical lesions in the gastric mucosa. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1990;174:1-8.
31. Bergmann M, Goischke HK. Investigations of the influence of sodium salicylate on the gastric mucosa of the rat. *Dtsch Z Verdau Stoffwechselkr.* 1981;41(6):280-8