

Manifestaciones bioquímicas, ecocardiográficas y anatomopatológicas asociadas con el síndrome metabólico inducido por Coca-Cola® en la rata

JULIAN GONZALEZ, MATILDE E. OTERO-LOSADA, ROBERTO A. GUERRI-GUTTENBERG, DANIEL GRANA, JOSE MILEI

El consumo de bebidas gaseosas se ha triplicado en los últimos veinte años. **Objetivo:** investigar los efectos metabólicos y cardiovasculares de la ingesta de Coca-Cola® y Coca-Cola® light en ratas. **Material y método:** durante 6 meses de tratamiento, se estudiaron 48 ratas Wistar macho que fueron divididas en tres grupos, según la bebida utilizada: Coca-Cola® (C), Coca-Cola® light (L) o agua (A). A su término todos los animales bebieron agua durante otros 6 meses (lavado). Se obtuvieron ecocardiografía y registro de presión sistólica en animales despiertos a los tiempos indicados. Se midieron los niveles plasmáticos de α -tocoferol, ubiquinona-10, glucosa, triglicéridos, colesterol total y de alta densidad plasmáticos a los 6 meses (tratamiento) y a los 12 meses (lavado) desde el inicio del estudio. **Resultados:** a los 6 meses los animales del grupo C mostraron (*vs* grupo A): aumento de peso ($+7 \pm 1\%$; $p < 0,01$), mayor consumo líquido ($\times 1,7$ veces; $p < 0,001$), hipertensión sistólica ($+7,5 \pm 0,5\%$; $p < 0,01$), ingesta sólida disminuida (-31% ; $p < 0,001$), hipertrigliceridemia ($\times 3$ veces; $p < 0,01$), hiperglucemia ($+15 \pm 1\%$; $p < 0,05$) y menores niveles de ubiquinona-10 ($-52 \pm 2\%$; $p < 0,05$). Estos cambios revirtieron a los 12 meses, excepto la hipertrigliceridemia y los niveles bajos de ubiquinona-10. Se observó dilatación ventricular y aumento del volumen minuto sin cambios en la frecuencia cardíaca en los grupos C y L, que revirtieron luego del lavado. Las autopsias revelaron casos aislados de esteatosis hepática no relacionados con el tratamiento, un caso de nefropatía crónica progresiva en C, cambios en el calibre vascular retiniano (relación arteriola: vénula) y angiogénesis extrarretiniana. **Conclusión:** el consumo prolongado de Coca-Cola® derivó en: estrés oxidativo y perfil bioquímico característico compatible con síndrome metabólico, remodelación del ventrículo izquierdo y alteraciones arteriales retinianas. Los hallazgos avalan la confiabilidad de este modelo para su uso en futuros estudios que arrojen información con potencial transferencia al ámbito clínico.

Palabras clave: Síndrome metabólico. Bebidas cola. Estrés oxidativo. Coenzima Q₁₀.

El consumo de bebidas cola carbonatadas se ha asociado con aumento de peso y obesidad¹, y se ha triplicado, en niños y adolescentes, en los últimos 30 años, reflejando un notable incremento respecto de registros anteriores². Un relevamiento de datos poblacionales (*National Diet and Nutrition Survey*³) reveló que

las gaseosas representan el 56% de la ingesta líquida de niños y adolescentes entre 4 y 18 años, seguida por la leche (18%) y el agua (9%).

La relación entre el consumo de bebidas gaseosas azucaradas y la aparición de obesidad ha sido documentada tanto en niños y adolescentes⁴ como en adultos⁵. Por consiguiente, es de vital importancia ahondar en el conocimiento de los efectos que el consumo exagerado de estas bebidas produce a nivel metabólico y cardiovascular^{3,6}. Existe acuerdo en que la ingesta de la fructosa presente en estas bebidas, a diferencia de la glucosa, no estimularía la liberación de insulina y leptina, no produciendo saciedad e incrementando indirectamente el consumo calórico⁶.

En los últimos años se ha enfatizado la importancia del síndrome metabólico (SM) en relación con un mayor riesgo de desarrollo de diabetes *mellitus* tipo 2 y enfermedad cardiovascular asociada⁷, siendo esta la

Instituto de Investigaciones Cardiológicas "Prof. Dr. Alberto C. Taquini" (ININCA) UBA-CONICET.

Dirección postal: José Milei. Instituto de Investigaciones Cardiológicas "Prof. Dr. Alberto C. Taquini" (ININCA) UBA-CONICET. Marcelo T. de Alvear 2270. 1122 Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.

e-mail: ininca@fmed.uba.ar

Los autores de este trabajo declaran al mismo no afectado por conflictos de intereses.

Recepción del artículo: 21-DIC-2010

Aceptación: 27-ENE-2011

La versión digitalizada de este trabajo está disponible en www.fac.org.ar

primera causa de muerte en nuestro país⁸ y a nivel mundial⁹. Por otra parte, la epidemia de obesidad que se observa actualmente en Occidente parece continuar en expansión¹⁰, convirtiendo al SM en un asunto de máxima prioridad en salud pública a nivel mundial, dado que su prevalencia se estima en aproximadamente hasta un 24% de los adultos mayores de 25 años en los Estados Unidos⁷.

OBJETIVOS

1) Determinar si el consumo de bebida cola azucarada ("común") es capaz de inducir en ratas Wistar las alteraciones bioquímicas que caracterizan al SM humano así como posibles lesiones anatomopatológicas. 2) Determinar si los efectos del consumo de bebida cola endulzada con edulcorantes no nutritivos (*light*) difieren de los observados en el punto 1. 3) Evaluar si el consumo de agua es capaz de revertir los efectos metabólicos y morfológicos eventualmente derivados del consumo prolongado de bebidas cola. 4) Evaluar si el consumo de las bebidas cola afecta la geometría y función cardíacas.

MATERIAL Y METODO

Se utilizaron 48 ratas Wistar macho, en condiciones acordes con las recomendaciones internacionales actuales.

Se dividieron en 3 grupos con 16 animales cada uno. Los animales bebieron coca común (grupo C), coca *light* (grupo L) o agua potable (grupo A) *ad libitum*.

Se utilizó Coca-Cola® por ser la bebida cola más consumida en nuestro país. Según su fabricante, esta bebida contiene cada 200 mL de agua carbonatada: 12 mg de sodio, caramelo, 23 mg de cafeína, ácido fosfórico, ácido cítrico, extracto de vainilla, saborizantes (aceites de limón, naranja, canela, nuez, coriandro), jugo de lima, extracto de coca (*Erythroxylon novogranatense*), 27 g de jarabe de maíz de alta fructosa (fructosa al 55%). En la Coca-Cola® *light* se reemplaza el jarabe de maíz de alta fructosa por una combinación de aspartame y acesulfame K.

Todos los animales se mantuvieron en el bioterio del ININCA, con ciclos de luz oscuridad de 12 horas, a una temperatura de $21 \pm 2^\circ\text{C}$ y alimentados con un producto balanceado extrusado, con contenido de sal normal y 16-18% de proteínas (Cooperación-Argentina). Los animales fueron pesados semanalmente, y el consumo de alimentos y bebida se evaluó dos veces por semana. Luego de 6 meses se practicó eutanasia en el 50% de los animales de cada grupo. El resto de los animales, de los 3 grupos, continuó bebiendo agua durante 6 meses (período de "lavado") al cabo de los cuales se les practicó eutanasia.

Medición de la tensión arterial. Al inicio del estudio, y cada 4 semanas, se evaluó la tensión arterial por el método pletismográfico de la cola. Las mediciones se

realizaron con las ratas despiertas, en un cámara plástica, y en cada sesión se realizaron tres mediciones, como mínimo (Narco Bio-Systems, Austin, Texas).

Registros ecocardiográficos. Los ecocardiogramas transtorácicos se realizaron al inicio, y a los 6 y 12 meses de iniciado el estudio, en animales despiertos, utilizando un ecocardiógrafo ATL 3000 HDI (Bethold, WA) con un transductor de 10,5 MHz. Se obtuvieron imágenes en modo M y bidimensionales en el eje menor a nivel de los músculos papilares. Los espesores, diastólico del septum interventricular (EDS) y de la pared posterior del ventrículo izquierdo (PPVI), se determinaron en el eje largo paraesternal a nivel mediocordal. Los diámetros del ventrículo izquierdo, de fin de diástole (DDVI) y de fin de sístole (DSVI), se midieron perpendicularmente al eje largo paraesternal a nivel mediocordal.

Se realizaron las siguientes estimaciones, de acuerdo con las siguientes fórmulas:

- Fracción de acortamiento (FAC) = $[(DDVI - DSVI) / DDVI] \times 100$

- Masa del ventrículo izquierdo (MVI) = $(DDVI + EDS + PPVI)^3 - (DDVI)^3 \times 1,04^{11}$

- Espesor relativo de la pared (ERP) = $(PPVI + EDS) / DDVI$

- Volumen de fin de diástole (VFD) = $0,85 \times (DDVI)^3$

- Volumen de fin de sístole (VFS) = $0,85 \times (DSVI)^3$

- Volumen minuto = $(VFD - VFS) \times \text{frecuencia cardíaca}$, medida simultáneamente durante el registro ecocardiográfico

Determinaciones bioquímicas. Luego de 4 horas de ayuno se extrajo sangre venosa de la cola para determinar glucosa, triglicéridos, colesterol (total y la fracción de alta densidad) y ácido úrico. Se utilizaron métodos enzimáticos¹². Se midieron los niveles de α -tocoferol (vitamina E) y ubiquinona-10 (coenzima Q₁₀) utilizando RP-HPLC-UV.

Estudio anatomopatológico. Se realizó autopsia completa a todos los animales, previa exanguinación subtotal bajo anestesia (tiopental sódico 40 mg/kg IP). Se extrajeron: corazón, páncreas, hígado, aorta abdominal y torácica, riñones, ojos y músculo esquelético. Las muestras fueron procesadas para microscopía óptica. Se realizaron cortes de 3-5 μm que fueron teñidos con hematoxilina eosina (H&E), colorante tricrómico de Masson y PAS que fueron examinados por 2 evaluadores independientes. En cada ojo se realizaron 10 cortes seriados (siguiendo el eje anteroposterior) para determinar el diámetro arteriolar retiniano.

Análisis estadístico. Los datos se analizaron mediante ANOVAs o MANOVAs, según el caso; se consideró significativo un valor $p < 0,05$. Se utilizó *software* SPSS™ versión 15.0 y graficador GraphPad PRISM™ versión 5.

RESULTADOS

Se observó incremento de peso (+6,9%; $p < 0,01$),

TABLA 1
PESO CORPORAL, CONSUMO LIQUIDO Y SOLIDO, TENSION ARTERIAL SISTOLICA Y PARAMETROS
ECOCARDIOGRAFICOS DE LOS ANIMALES EN ESTUDIO A LOS TIEMPOS INDICADOS

	6 meses			12 meses		
	A_6 (n = 15)	C_6 (n = 14)	L_6 (n = 15)	A_{12} (n = 7)	C_{12} (n = 6)	L_{12} (n = 8)
Peso (g)	626,2 ± 11	669,2 ± 8,5**	630,8 ± 9	689,2 ± 43	703,8 ± 27	699,1 ± 61
Ingesta líquida (mL/100g peso/día)	8,7 ± 1,2	14,7 ± 2,8***	8,5 ± 1,7	7,09 ± 1,1	11,34 ± 1,8***	6,5 ± 1,5
Ingesta sólida (mg/100g peso/día)	4,9 ± 0,6	3,4 ± 0,6***	5,1 ± 0,4	5,5 ± 0,6	3,8 ± 0,6***	4,9 ± 0,3
TAS (mmHg)	134,2 ± 2	144,9 ± 3*	135,5 ± 2	130,7 ± 9	142,5 ± 15	143,7 ± 8
Diámetro diastólico del VI (mm)	6,8 ± 0,4	7,37 ± 0,3*	7,27 ± 0,7*	7,2 ± 0,5	7,4 ± 0,45	7,8 ± 0,6
Espesor de la pared del VI (mm)	0,40 ± 0,03	0,37 ± 0,03*	0,36 ± 0,05*	0,35 ± 0,04	0,36 ± 0,02	0,35 ± 0,04
Vol. de fin de diástole del VI (mL)	0,27 ± 0,04	0,34 ± 0,04**	0,33 ± 0,09**	0,32 ± 0,06	0,34 ± 0,06	0,41 ± 0,09
Volumen minuto (mL/min)	117,9 ± 21	148,0 ± 21*	138,5 ± 33*	132,3 ± 26	146,45 ± 29	155,2 ± 79

TAS: tensión arterial sistólica. VI: ventrículo izquierdo. Vol.: volumen. Datos expresados como media ± DE. *: $p < 0,05$. **: $p < 0,01$ vs A_6 o A_{12} (ANOVA).

mayor consumo líquido diario (+1,7 veces; $p < 0,001$) y aumento de tensión arterial sistólica (+7,5%; $p < 0,01$) y menor ingesta sólida (-31%; $p < 0,001$) en el grupo C con respecto al grupo A, a los 6 meses (Tabla 1). A los 12 meses no se observaron diferencias en la tensión arterial sistólica ni en el peso entre los grupos (peso promedio 11,8% mayor que al fin del tratamiento; $p < 0,05$) (Tabla 1).

Estudios bioquímicos

Luego de 6 meses de tratamiento, el grupo C presentó hiperglucemia (+15%, $F_{2,18} = 3,611$; $p < 0,05$), hipertrigliceridemia ($\times 3$ veces; $F_{2,18} = 5,998$; $p < 0,01$) y tendencia a hipercolesterolemia (+32% colesterol total; $F_{2,18} = 3,524$; NS), sin cambios en la fracción HDL ($F_{2,18} = 3,317$; NS) (Figura 1). En el grupo L se observó normoglucemia, tendencia a hipertrigliceridemia ($\times 2$ veces; NS) e hiper-

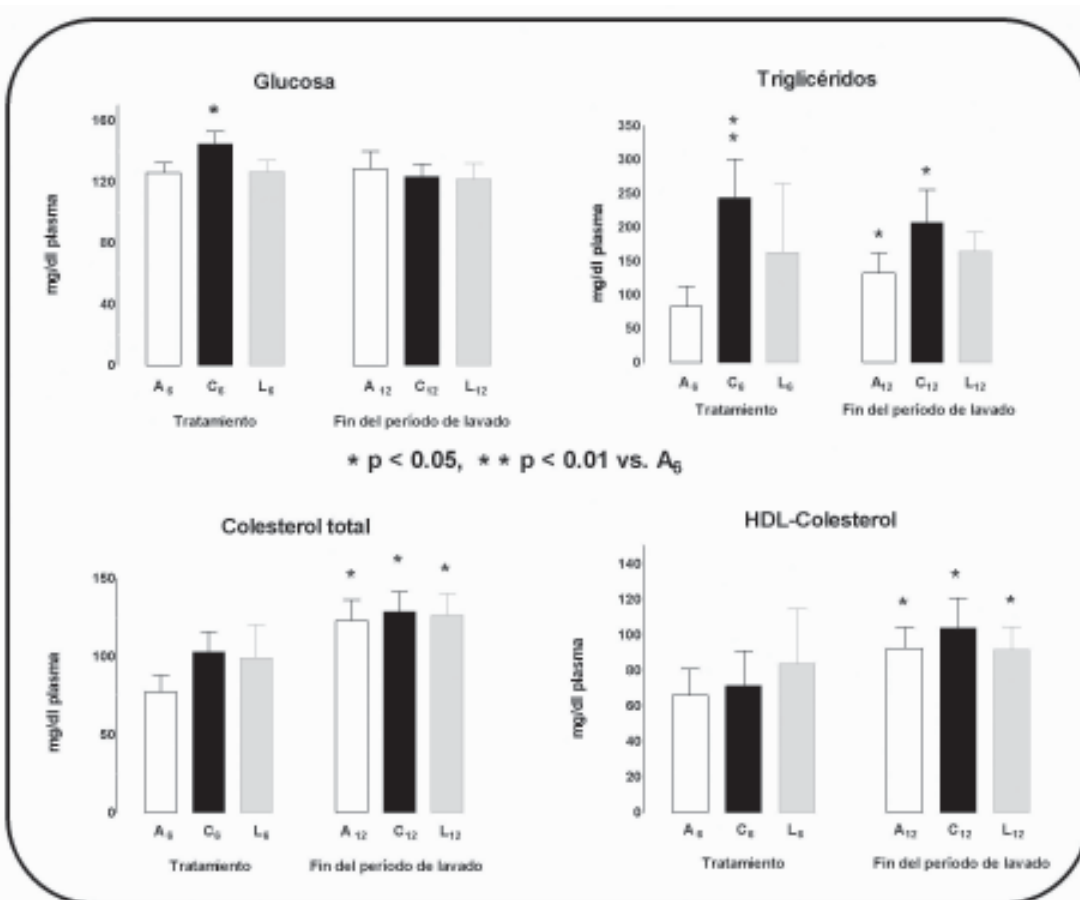


Figura 1. Concentración plasmática de glucosa, triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL a los 6 meses (final del tratamiento) y a los 12 meses (luego de 6 meses de "lavado") del estudio.

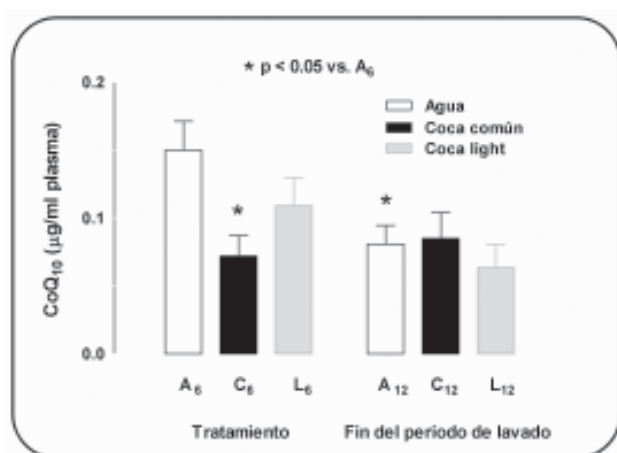


Figura 2. Concentración plasmática de CoQ₁₀ a los 6 meses (final del tratamiento) y a los 12 meses (luego de 6 meses de "lavado") del estudio. *: $p < 0,05$ comparado con el grupo C luego del tratamiento.

colesterolemia total (+29%; NS) (**Figura 1**). Luego del periodo de lavado, la glucemia fue similar en los 3 grupos ($F_{2,16} = 3,159$; NS), presentando valores semejantes al grupo A a los 6 meses ($F_{1,34} = 3,374$; NS) (**Figura 1**). Se observó hipertrigliceridemia sostenida en el grupo C, en comparación con el grupo A, a los 12 meses ($F_{2,16} = 3,649$; $p < 0,05$). La hipertrigliceridemia inducida por el tratamiento en el grupo L revirtió luego del periodo de "lavado" (**Figura 1**). Asimismo se observó hipercolesterolemia en los 3 grupos con respecto al final del tratamiento ($F_{1,34} = 4,243$; $p < 0,05$) (**Figura 1**) y similares niveles de colesterol HDL entre los 3 grupos ($F_{2,16} = 3,164$; NS).

El tratamiento (6 meses) redujo los niveles plasmáticos de CoQ₁₀ en el grupo C comparado con el grupo A (-52%, $F_{2,18} = 3,576$; $p < 0,05$) (**Figura 2**) sin afectar los valores de CoQ₁₀ en el grupo L (-27% NS vs grupo A +51% NS vs grupo C). Los niveles de CoQ₁₀ no presentaron diferencias entre los 3 grupos al final del periodo de lavado ($F_{2,16} = 2,379$ NS) (**Figura 2**) y se redujeron (-46%, $F_{1,34} = 5,197$; $p < 0,03$) en comparación con los niveles del grupo A medidos al fin del tratamiento (6 meses antes) (**Figura 2**).

Los niveles plasmáticos de α -tocoferol no fueron afectados por el tratamiento ($F_{1,34} = 2,018$ NS) (**Figura 3**) y análogamente a lo observado para la CoQ₁₀, disminuyeron (-48%, $F_{1,34} = 4,532$; $p < 0,04$) en el grupo A luego del periodo de lavado (**Figura 3**).

Se encontró correlación entre niveles de CoQ₁₀ y trigliceridemia ($p < 0,01$, test de Pearson, 2 colas) a lo largo de todo el estudio.

Se calculó la relación entre niveles plasmáticos de metabolitos prooxidantes (triglicéridos, LDL-colesterol) y factores protectores de oxidación (CoQ₁₀, α -tocoferol, HDL-colesterol) considerando las respectivas concentraciones plasmáticas medidas a los 6 y 12 meses. Esta

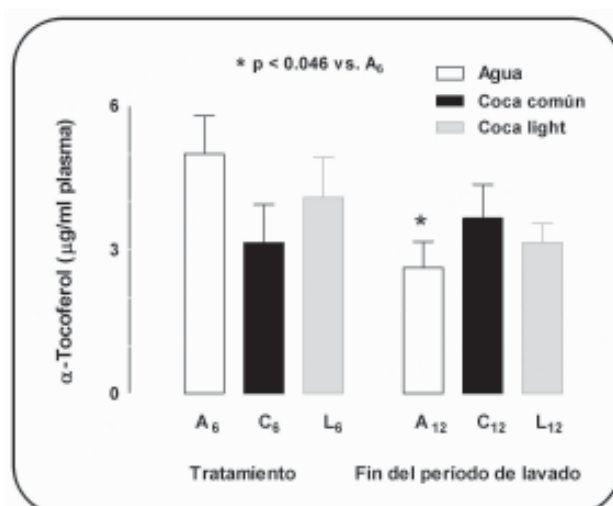


Figura 3. Concentración plasmática de α -tocoferol plasmático a los 6 meses (final del tratamiento) y a los 12 meses (luego de 6 meses de "lavado") del estudio. *: $p < 0,05$ comparado con el grupo C luego del tratamiento.

relación aumentó en el grupo C a los 6 meses y en los 3 grupos a los 12 meses (**Figura 4**). No hubo diferencias en los niveles de ácido úrico entre los tres grupos en los tiempos estudiados.

Evaluación ecocardiográfica

En los grupos C y L se observó aumento del diámetro diastólico, aumento de volúmenes cardíacos y adelgazamiento de la pared del ventrículo izquierdo, con su consiguiente dilatación y aumento del volumen minuto, sin observarse cambios en la frecuencia cardíaca (**Tabla 1**).

Estudio histopatológico

El examen microscópico mostró casos aislados de esteatosis hepática en grado variable, según la puntuación propuesta por Kleiner y colaboradores¹³. Se observó: a) esteatosis leve en el grupo A (1 caso) a los 6 meses, y en los grupos C (2 casos) y L (2 casos) a los 12 meses; b) esteatosis moderada en el grupo A (1 caso) y en el grupo L (2 casos) a los 6 meses; c) esteatosis severa en el grupo L (1 caso) a los 6 meses de tratamiento (**Figura 5 A y B**). A nivel renal se observaron distintos grados de nefropatía crónica progresiva, patología que se desarrolla usualmente en las ratas en asociación con el envejecimiento, y que se caracteriza histológicamente por presentar glomeruloesclerosis focal y segmentaria, metaplasia tubular de la cápsula de Bowman, atrofia tubular (clásica, tiroidea y endocrina) e infiltrados intersticiales mononucleares (**Figura 6**). El análisis cualicuantitativo reveló que el grupo C fue el más afectado (mayor proporción de parénquima dañado) a los 6 meses. Luego del periodo de "lavado", el parénquima renal se observó menos dañado que a los 6 meses.

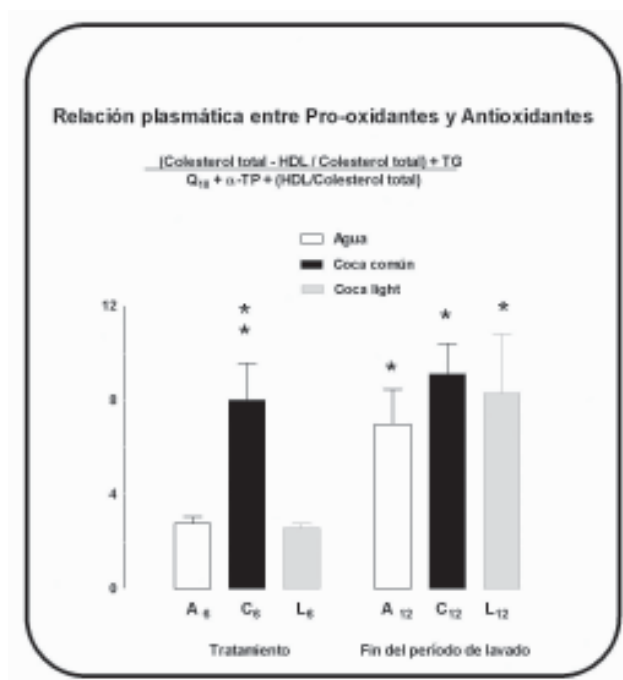


Figura 4. Relación entre metabolitos pro-oxidantes y factores protectores de oxidación, calculado en base a las respectivas concentraciones plasmáticas a los 6 y 12 meses. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$ comparado con el grupo C luego del tratamiento.

A nivel de miocardio se identificaron hallazgos poco relevantes: calcificaciones de fibras aisladas, infiltrados mononucleares focales y placas fibróticas subendocárdicas, así como algunos casos de esclerosis periarteriolar. Se observó un discreto engrosamiento intimal (1 caso en grupo A, a los 6 meses) y calcificaciones en la pared aórtica (en grupo L: 1 caso a los 6 meses y 1 caso a los 12 meses). No se observaron alteraciones en páncreas o músculo esquelético en ningún caso, independientemente del grupo o el tiempo.

El diámetro arteriolar retiniano no mostró cambios en el grupo A a lo largo del estudio ($21 \pm 2,7 \mu\text{m}$ a los 6 meses vs $21 \pm 1,8 \mu\text{m}$ a los 12 meses; NS). El grupo A fue diferente a C y L, tanto a los 6 meses ($40 \pm 2,2 \mu\text{m}$ y $56 \pm 3,8 \mu\text{m}$, respectivamente; $p < 0,001$) como a los 12 meses ($35 \pm 2,9 \mu\text{m}$ y $35 \pm 1,8 \mu\text{m}$, respectivamente; $p < 0,001$).

C₆ fue diferente a L₆ y A₁₂ ($p < 0,001$) y a C₁₂ y L₁₂ ($p < 0,01$). L₆ fue mayor que todos los grupos a los 12 meses ($p < 0,001$).

DISCUSION

En este estudio se observó, en ratas Wistar, aumento de peso, hipertrigliceridemia, hiperglucemia e hipertensión arterial luego del consumo prolongado de bebidas cola azucaradas. Excepto por los triglicéridos, todos esos parámetros se normalizaron luego de 6 meses de período de "lavado" (reemplazo de bebidas cola por agua común). Cabe observar que el consumo de Coca-Cola® light (sin azúcar) se asoció con una leve pero robusta tendencia a la hipertrigliceridemia. Las bebidas gaseosas son la principal fuente de azúcar agregada a la dieta en el mundo, y su consumo ha sido asociado con obesidad en niños y adolescentes, así como con mayor riesgo de desarrollar síndrome metabólico^{5,14}.

Estudios recientes demostraron la capacidad de la fructosa para inducir aumento de peso y esteatosis hepática¹⁵, acumulación intrahepática de ácido úrico y triglicéridos, así como aumento de indicadores de inflamación (proteína quimiotáctica de monocitos, MCP-1 y factor de necrosis tumoral-alfa)¹⁶.

Aún cuando la compleja composición química de las bebidas utilizadas en este estudio dificulta el establecimiento de relaciones biunívocas entre los efectos (metabólicos, histopatológicos, etc.) y sus componentes particulares, la actual prevalencia del consumo de bebidas gaseosas junto con la tendencia a su aumento constante, jerarquizan la realización de un protocolo como el presente.

El consumo de Coca-Cola® común (azucarada, grupo C) por 6 meses resultó en incremento de peso, no obstante la reducción del consumo de alimentos sólidos, al compararlo con el grupo que consumió Coca-Cola® dietética o agua. Las ratas del grupo C obtenían energía de la glucosa y fructosa aportada por la bebida, por lo cual experimentaban saciedad y comían menos. A esto se suma que la hidrólisis y la absorción de los azúcares simples contenidos en las bebidas azucaradas demanda menos energía que la digestión de ali-

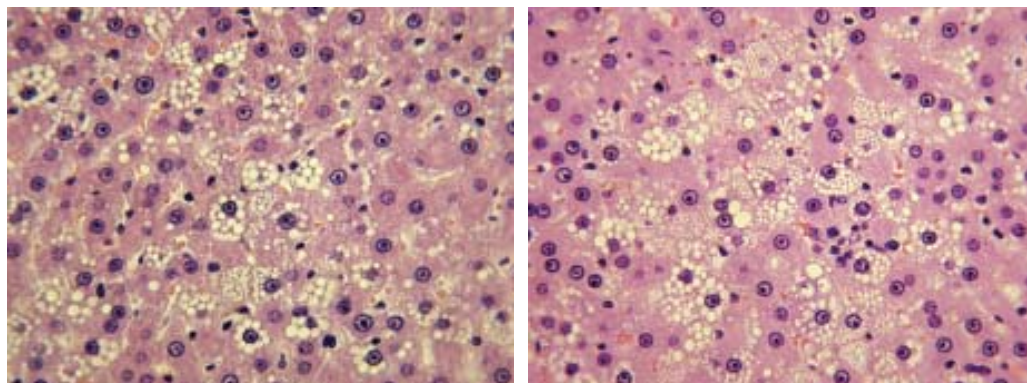


Figura 5 A y B. Esteatosis hepática moderada a severa en ratas tratadas con bebidas cola (H&E 250 x).

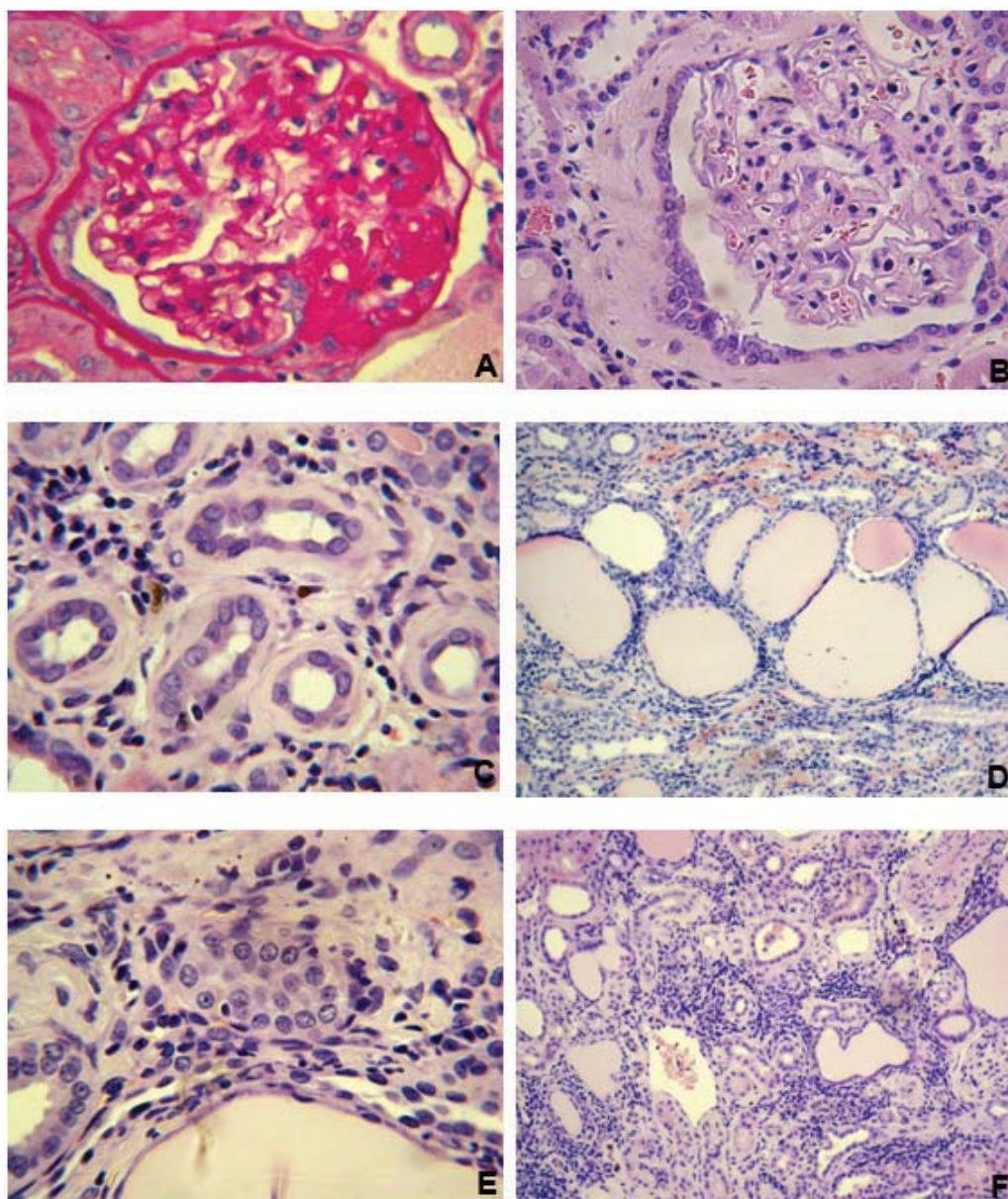


Figura 6. Imágenes características de nefropatía crónica progresiva. A: glomeruloesclerosis segmental focal (PAS-250 x). B: Metaplasia tubular de la cápsula de Bowman (H&E 250 x). C: Atrofia tubular clásica con engrosamiento de la membrana basal (H&E 250 x). D: atrofia tiroidea; dilatación tubular conteniendo fluido eosinofílico, similar a los folículos tiroideos (H&E 250 x). E: atrofia endocrina; la luz tubular no es visible (H&E 250 x). F: infiltrado mononuclear intersticial (H&E 100 x).

mentos sólidos, favoreciendo aún más el balance metabólico positivo y el aumento de peso.

Merecen especial consideración las alteraciones bioquímicas encontradas en el grupo L. Si bien el hallazgo de hipertrigliceridemia asociado al consumo de bebidas cola dietética no es novedad¹⁷, la información no es concluyente¹⁸. La hipertrigliceridemia no se debería única y exclusivamente a la mayor oferta calórica, ya que las gaseosas dietéticas contienen edulcorantes no calóricos o nutritivos.

Cabe mencionar que toda sustancia con poder edulcorante, y por definición, estimula los receptores gustativos para el gusto dulce, independientemente de que aporte o no calorías. Para producir una adecuada sensación de saciedad se requiere tanto de la estimulación gustativa como del efectivo aporte de calorías. Los

edulcorantes no nutritivos son incapaces de desencadenar respuestas anticipatorias adecuadas (fase cefálica de la secreción de insulina). Esto ha sido corroborado en el caso del aspartame que, a diferencia de la glucosa, no produce aumento temprano en los niveles de insulina¹⁹.

En la población occidental, la utilización de edulcorantes no nutritivos ha aumentado paralelamente con el índice de masa corporal, sin que se haya podido establecer si es casual o causal²⁰. La revisión crítica de la literatura en el tema sugiere que el consumo de edulcorantes no nutritivos se asociaría con aumento del apetito, algo observado con bastante frecuencia en los últimos tiempos. Nuestros resultados son congruentes en este sentido, y contribuyen a explicar el desarrollo de alteraciones metabólicas asociado con el

consumo de bebidas dietéticas observado en las ratas.

Resulta de gran importancia el hallazgo de la disminución de CoQ₁₀ en las ratas del grupo C, a los 6 meses, asociado con el aumento de metabolitos de riesgo (glucosa, triglicéridos, colesterol LDL). En estas condiciones se produce un desequilibrio en la relación entre factores prooxidantes y protectores de oxidación observable en el envejecimiento normal. Podría decirse que el síndrome metabólico y el estrés oxidativo asociado serían propios de un proceso de envejecimiento acelerado²¹.

Descartamos la posibilidad de que los cambios en los niveles de CoQ₁₀ se puedan atribuir a estimulación del gusto, ya que no hubo diferencias entre los grupos A y L. Los datos obtenidos indicarían que dicha diferencia se explica por la diferencia en el consumo de calorías. Luego del período de "lavado", los niveles de CoQ₁₀ tendieron a igualarse, pero en niveles más bajos que los que presentaba el grupo A a los 6 meses. Esto se podría interpretar como un cambio relacionado con el envejecimiento.

Los diferentes tipos de bebida no afectaron los niveles de α -tocoferol plasmático.

Los niveles de α -tocoferol también mostraron una reducción luego del período de "lavado", que sólo podría explicarse por efecto del tiempo, y sería atribuible al envejecimiento normal.

Nuestra interpretación es que los niveles reducidos de CoQ₁₀ hallados luego de 6 meses de beber coca común (azucarada) podrían deberse al agotamiento de la respuesta protectora frente al estrés oxidativo producido por la dieta hipercalórica. El aumento de peso de las ratas del grupo C estaría asociado a lipoperoxidación, con la consecuente alteración en el equilibrio redox mitocondrial. Esto apoyaría la idea de que el estrés oxidativo inducido por la hiperglucemia jugaría un papel esencial en la patogénesis del síndrome metabólico²².

Si tenemos en cuenta que la ubiquinona (CoQ₁₀) es fundamental para la regeneración del α -tocoferol²³, y ante el hecho de que los niveles de α -tocoferol no sufrieron modificaciones significativas entre los 3 grupos, podríamos concluir que los niveles de CoQ₁₀ en las ratas del grupo C sufrieron una depleción para mantener los niveles de α -tocoferol.

Es interesante señalar que existen datos que permiten asociar los niveles disminuidos de CoQ₁₀ y α -tocoferol con deterioro de la función ventricular izquierda²⁴, lo cual estaría de acuerdo con nuestros datos que muestran dilatación del ventrículo izquierdo y remodelamiento miocárdico en nuestro modelo²⁵.

En la teoría mitocondrial del envejecimiento, la CoQ₁₀ tendría un papel importante^{26,27}. En resumen, los cambios adaptativos en los niveles de CoQ₁₀ y α -tocoferol se observaron luego del consumo de una dieta hipercalórica por un período prolongado. Podría decirse que el

consumo aumentado de calorías produce cambios oxidativos similares a los producidos por el envejecimiento.

Recientemente se ha postulado que en el síndrome metabólico, la hiperuricemia podría ser intermediaria de la hipertrigliceridemia²⁸. Sin embargo en nuestro estudio no se observaron diferencias en los niveles de ácido úrico entre los grupos a los 6 y 12 meses.

Como ya se comentó más arriba, ambas bebidas cola (común y *light*) produjeron cambios a nivel miocárdico. Se observó aumento del diámetro diastólico del ventrículo izquierdo, del volumen de fin de diástole y del volumen sistólico, con reducción del espesor relativo de las paredes, generando aumento del volumen minuto sin afectar la frecuencia cardíaca, lo que podría explicarse por un aumento de la contractilidad; pero esta no fue medida en nuestro estudio. Estos cambios podrían estar relacionados con ingredientes presentes en ambos tipos de bebidas. Luego del período de lavado se observó reversión de dichos cambios.

El examen histológico del hígado reveló la presencia de esteatosis, especialmente en el grupo L. Abid y colaboradores²⁹ comunicaron que los pacientes con hígado graso no alcohólico o sin síndrome metabólico consumían más bebidas cola que los controles sanos. Los autores señalaron que tanto el caramelo como el aspartame serían fuentes de productos finales avanzados de glicosilación que podrían inducir insulinoresistencia y serían proinflamatorios. De cualquier manera, no hubo diferencias significativas entre los grupos en cuanto a la prevalencia de esteatosis.

La nefropatía crónica progresiva es una patología relacionada con el envejecimiento, y no está relacionada con la hipertensión sistémica^{30,31}. Vale decir que el grupo C presentó a los 6 meses el mayor grado de compromiso renal. En nuestro estudio no hemos medido proteinuria ni depuración glomerular de creatinina, que serían indicadores de severidad de esta patología.

El diámetro arteriolar retiniano se halló aumentado en los grupos C y L durante el tratamiento, y luego del período de "lavado" con respecto al grupo A. En cambio el diámetro de los vasos permaneció constante durante todo el estudio en este último grupo. Esto permite descartar la participación de factores relacionados con el envejecimiento en este aspecto. Hay que destacar que el diámetro vascular en los grupos C y L, a pesar de continuar aumentado respecto del A, disminuyó significativamente luego del "lavado". La afectación de las arteriolas de la retina por bebidas cola es un hallazgo interesante que merece un profundo estudio por sus posibles implicancias clínicas.

Nuestro modelo presentó alteraciones similares a las observadas en el síndrome metabólico descrito en humanos, observándose sobrepeso, hipertrigliceridemia, hiperglucemia leve, hipertensión sistólica, alteraciones ecocardiográficas y algunos hallazgos histopa-

tológicos de importancia. Todos estos cambios fueron acompañados por indicadores de estrés oxidativo. Muchos de estos cambios revirtieron luego del período de "lavado", aunque no todos. Por su importancia clínica en relación con el aumento del consumo de gaseosas cola, este modelo puede ser útil para otros estudios relacionados con la patogénesis de los cambios relacionados con el síndrome metabólico y sus consecuencias a nivel cardiovascular.

SUMMARY

METABOLIC SYNDROME EXPERIMENTALLY INDUCED BY COCA-COLA®

Consumption of soft drinks has nearly triplicated in the last two decades.

Objective. To assess the effects of sustained cola beverages' consumption in rats.

Material and method. Forty eight Wistar male rats were divided in three groups and dranked: Coca-Cola® (C), Coca-Cola® light (L) or water (A) for 6 months (treatment). At that time all three groups were switched to water for the next 6 months (washout, 12 months from the beginning of the study). Determinations of α -tocopherol, coenzyme Q_{10} , glucose, triglycerides, total and high-density cholesterol fraction were made at 6 and 12 months. Echocardiographical evaluations and systolic pressure records were obtained in the awake animals.

Results. C group developed overweight ($+7 \pm 1\%$; $p < 0.01$), and had larger drinking volumes ($\times 1.7$ veces; $p < 0.001$), systolic hypertension ($+7.5 \pm 0.5\%$; $p < 0.01$), reduced solid intake (-31% ; $p < 0.001$), hypertriglyceridemia ($\times 3$; $p < 0.01$), hyperglycemia ($+15 \pm 1\%$; $p < 0.05$) and lower ubiquinone-10 levels ($-52 \pm 2\%$; $p < 0.05$) compared to A group. At 12 months reversal was observed except for hypertriglyceridemia and low ubiquinone-10 (coenzyme Q_{10}) levels. Left ventricular dilatation and increased cardiac output (heart rate unaffected) were observed in C and L groups (6 months) and disappeared after washout (12 months). Autopsies revealed isolated cases of hepatic steatosis unrelated to treatment, severe chronic progressive nephropathy in one case in C group, and changes in arteriole-to-venule diameter ratio with extra retinal angiogenesis.

Conclusions. Six months after treatment with Coca-Cola® oxidative stress and other typical biochemical changes associated with metabolic syndrome were observed the same as left ventricle remodeling and vessels' abnormalities in retina. These findings support the acceptable use of this model in future research in the field leading to outcomes with potential clinical application.

Key words: Metabolic syndrome. Cola beverages. Oxidative stress. Coenzyme Q_{10} .

Agradecimientos

Al personal de bioterio encargado del mantenimiento y cuidado de los animales y al personal técnico que realizó el procesamiento de los cortes histológicos.

BIBLIOGRAFIA

1. Malik VS, Schulze MB, Hu FB: Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. *Am J Clin Nutr* **2006**; 84: 274-288.
2. Harrington S: The role of sugar-sweetened beverage consumption in adolescent obesity: a review of the literature. *J Sch Nurs* **2008**; 24: 3-12.
3. He FJ, Marrero NM, MacGregor GA: Salt intake is related to soft drink consumption in children and adolescents. A link to obesity? *Hypertension* **2008**; 51: 629-634.
4. Ludwig DS, Peterson KE, Gortmaker SL: Relation between consumption of sugar sweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis. *Lancet* **2001**; 357: 505-508.
5. Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF, et al: Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation* **2007**; 116: 480-488.
6. Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM: Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr* **2004**; 79: 537-543.
7. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ: The metabolic syndrome. *Lancet* **2005**; 365: 1415-1428.
8. Anuario de Estadísticas Vitales **2003**. Ministerio de Salud y Ambiente. Presidencia de la Nación.
9. Gaziano JM. Epidemiology of Cardiovascular Disease: Introduction. *En: Fauci AS, Kasper DL, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J: Harrison's Principles of Internal Medicine* (17th ed). **2008**.
10. Lerman J: Epidemiología del síndrome metabólico. *En: Lerman J, Iglesias R: Enfoque integral del síndrome metabólico* (2^a ed). **2009**.
11. Jennings GL, McMullen JR: Left ventricular hypertrophy: beyond the image and defining the human cardiac phenotype in hypertension. *J Hypertens* **2007**; 25: 941-947.
12. Kaplan A, Jack R, Opheim KE, Toivola B, Lyon AW (eds): Clinical chemistry. Interpretation and techniques (4th ed). Philadelphia, Williams and Wilkins **1995**: pp 220-250.
13. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al: Design and validation of a histologic scoring system for NAFLD. *Hepatology* **2005**; 41: 1313-1321.
14. Gaby AR: Adverse effects of dietary fructose. *Alt Med Rev* **2005**; 10: 294-306.
15. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, et al: Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J. Clin Invest* **2009**; 119: 1322-1334.
16. Sánchez-Lozada LG, Mu W, Roncal C, et al: Comparison of free fructose and glucose to sucrose in the ability to cause fatty liver. *Eur J Nutr* **2010**; 49: 1-9.
17. Parks EJ, Hellerstein MK: Carbohydrate-induced hypertriglyceridemia: historical perspective and review of biological mechanisms. *Am J Clin Nutr* **2000**; 71: 412-433.
18. Surwit RS, Feinglos MN, McCaskill CC, et al: Metabolic and behavioral effects of a highsucrose diet during weight loss. *Am J Clin Nutr* **1997**; 65: 908-915.
19. Smeets PA, de Graaf C, Stafleu A, et al: Functional magnetic resonance imaging of human hypothalamic responses to sweet taste and calories. *Am J Clin Nutr* **2005**; 82: 1011-1016.
20. Mattes RD, Popkin BM: Nonnutritive sweetener consumption in humans: effects on appetite and food intake and their putative mechanisms. *Am J Clin Nutr* **2009**; 89: 1-14.
21. Hansel B, Kontush A, Bonnefont-Rousselot D, et al: Alterations in lipoprotein defense against oxidative stress in metabolic syndrome. *Curr Atheroscler Rep* **2006**; 8: 501-509.

22. King GL, Loeken MR: Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications. *Histochem Cell Biol* **2004**; 122: 333-338.
23. Lass A, Forster MJ, Sohal RS: Effects of coenzyme Q10 and α -tocopherol administration on their tissue concentrations in the mouse: elevation of mitochondrial α -tocopherol by coenzyme Q10. *Free Radic Biol Med* **1999**; 26: 1375-1382.
24. Colquhoun DM, Jackson R, Walters M, et al: Effects of simvastatin on blood lipids, vitamin E, coenzyme Q10 levels and left ventricular function in humans. *Eur J Clin Invest* **2005**; 35: 251-258.
25. Gomez Llambi H, Suarez D, Grana DR, et al: Chronic cola drinking reproduces metabolic syndrome and induces cardiac alterations in rats (Abstract). *J Hypertens* **2009**; 27 (Suppl 4): 3 A.2.
26. Miquel J, Economos AC, Fleming J, et al: Mitochondrial role in cell aging. *Exp Gerontol* **1980**; 15: 575-591.
27. Lenaz G, Bovina C, Formigini G, et al: Mitochondria, oxidative stress, and antioxidant defences. *Acta Biochim Pol* **1999**; 46: 1-21.
28. Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, et al: Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* **2007**; 86: 899-906.
29. Abid A, Taha O, Nseir W, et al: Soft drink consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome. *J Hepatol* **2009**; 51: 918-924.
30. Fiori M, Ossani GP, Lago N, et al: Chronic progressive nephropathy: Functional, morphological and morphometrical studies. *Ren Fail* **2010**; 32: 1-7.
31. Ortmann J, Amann K, Brandes RP, et al: Role of podocytes for reversal of glomerulosclerosis and proteinuria in the ageing kidney after endothelin inhibition. *Hypertension* **2004**; 44: 974-981.

Si comenzamos con certezas, terminaremos con dudas; pero si comenzamos con dudas, y persistimos en ellas con paciencia, terminaremos en certezas.

FRANCIS BACON