



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Evaluación del efecto teratogénico de la bebida  
energética Red Bull® en larvas de tercer estadio  
de *Drosophila melanogaster***

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA**

PRESENTA:

**NAYELI MARTÍNEZ MENDOZA**

ASESORA: QFB. MARÍA LLASBETH HERNÁNDEZ  
CALDERÓN

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTEZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis.**

Evaluación del efecto teratogénico de la bebida energética Red Bull® en larvas de tercer estadio de *Drosophila melanogaster*.

Que presenta la pasante: **Nayeli Martínez Mendoza**  
Con número de cuenta: **308168853** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 07 de Febrero de 2019.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo	
<b>VOCAL</b>	Q.F.B. Rosalba Bonilla Sánchez	
<b>SECRETARIO</b>	Q.F.B. María Llasbeth Hernández Calderón	
<b>1er. SUPLENTE</b>	M. en C. María Lucero Paniagua García	
<b>2do. SUPLENTE</b>	Dra. Dolores Molina Jasso	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga\*

## **AGRADECIMIENTO**

**El presente proyecto se realizó con el apoyo del  
proyecto PAPIME PE202812**

## **Agradecimientos**

A mi familia por enseñarme que la perseverancia, la constancia y las ganas siempre te llevan a obtener algo mejor. A mi madre porque a pesar de todo siempre quiso lo mejor para mí, a mi hermana por ser mi cómplice y amiga, a mi padre porque de él aprendí que si quieres algo debes luchar hasta conseguirlo, a mi hermano porque quiero ser un buen ejemplo para él.

A mis amigos, que, aunque son pocos, saben el verdadero significado de la lealtad. A Uriel, porque siempre hubo buenos deseos en los peores momentos, a Jorge, porque la honestidad siempre ha sido tu punto fuerte, a Luis, porque crees en mí, a Yared, porque hemos llegado a ser como hermanas. Ustedes siempre han estado allí en las buenas y en las malas y sé que siempre estarán.

A Alfredo, que ha pasado las peores situaciones conmigo y aún sigue aquí, siempre te he dicho que eres la mejor persona que he conocido y creamos un lazo tan fuerte que ya nadie lo puede romper.

A mi asesora, Llasbeth, que siempre me ayudó, apoyo y estuvo al pie del cañón para que esto fuera posible, gracias por creer en mí.

A los eventos afortunados que me dieron felicidad y a los desafortunados, de los que aprendí.

A mi maravillosa FESC, mi segunda casa, gracias por todo lo que me diste.

A todas aquellas personas que me dieron ánimos, que rieron y aprendieron conmigo, que me regalaron un pedacito de su tiempo.

**¡Gracias!**

# ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS .....	4
ÍNDICE DE TABLAS .....	5
ÍNDICE DE GRÁFICAS .....	5
RESUMEN.....	6
1. MARCO TEÓRICO.....	7
1. <i>Drosophila melanogaster</i> como modelo biológico .....	7
1.1 Antecedentes e importancia.....	7
1.2 Taxonomía.....	8
1.3 Ciclo de vida.....	8
1.4 Morfología.....	14
1.5 Cepa Silvestre.....	15
1.6 Dimorfismo sexual .....	16
2. Teratogénesis.....	16
2.1 Definición.....	18
2.2 Teratógenos .....	18
2.3 Clasificación general de los teratógenos .....	19
2.3.1 Teratógenos Biológicos.....	19
2.3.2 Teratógenos Físicos.....	20
2.3.3 Teratógenos Químicos.....	20
2.4 Clasificación de la FDA para teratógenos químicos .....	21
2.5 Tipos de defectos congénitos .....	20
2.5.1 Anomalía menor y Anomalía mayor .....	20
2.6 Mecanismos de producción de malformaciones congénitas .....	21
2.6.1 Mutaciones .....	21
2.6.2 Interferencia mitótica .....	24
2.6.3 Nivel bioquímico de acción de teratógenos .....	24
3. Bebidas energéticas.....	28
3.1 Historia de las bebidas energéticas.....	28
3.2 ¿Qué son las bebidas energéticas?.....	28
3.3 Composición de las bebidas energéticas .....	29
3.3.1 Cafeína .....	29

3.3.2	Taurina .....	30
3.3.3	Extractos de hierbas .....	29
3.3.3.1	Guaraná .....	29
3.3.3.2	Ginseng.....	30
3.3.3.3	Schizandra .....	30
3.3.3.4	Damiana .....	31
3.3.3.5	Mate.....	31
3.3.4	Carbohidratos .....	31
3.3.5	Vitaminas .....	32
3.3.6	Carnitina.....	32
3.3.7	Glucuronolactona .....	33
3.3.8	Inositol.....	33
3.4	Efectos negativos de las bebidas energéticas .....	34
4.	JUSTIFICACIÓN.....	36
5.	OBJETIVO GENERAL .....	37
6.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	37
7.	METODOLOGÍA .....	38
7.1	Material biológico .....	38
7.1.1	La CEPA .....	38
7.2	Obtención de larvas de 3 <sup>er</sup> estadio .....	38
7.2.1	Cruza .....	38
7.3	Teratogénesis en larvas de tercer estadio de <i>D. melanogaster</i> .....	39
7.4	Evaluación de la viabilidad de la generación P y F1 .....	39
7.5	Evaluación del efecto teratogénico de Red Bull ® a diferentes concentraciones sobre larvas de 3er estadio de <i>D. melanogaster</i> .....	40
7.6	Evaluación del efecto embriotóxico .....	40
8.	RESULTADOS.....	41
8.1	Malformaciones observadas .....	47
9.	DISCUSIÓN .....	51
10.	CONCLUSIONES .....	55
11.	PERSPECTIVAS A FUTURO .....	55
12.	ANEXO 1.....	56
13.	REFERENCIAS .....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1</i> .....	8
<i>Figura 2</i> .....	9
<i>Figura 3</i> .....	10
<i>Figura 4</i> .....	10
<i>Figura 5</i> .....	11
<i>Figura 6</i> .....	11
<i>Figura 7</i> .....	12
<i>Figura 8</i> .....	15
<i>Figura 9</i> .....	15
<i>Figura 10</i> .....	16
<i>Figura 11</i> .....	17
<i>Figura 12</i> .....	20
<i>Figura 13</i> .....	22
<i>Figura 14</i> .....	25
<i>Figura 15</i> .....	30
<i>Figura 16</i> .....	31
<i>Figura 17</i> .....	32
<i>Figura 18</i> .....	35
<i>Figura 19</i> .....	35
<i>Figura 20</i> .....	49
<i>Figura 21</i> .....	50
<i>Figura 22</i> .....	50
<i>Figura 23</i> .....	51
<i>Figura 24</i> .....	51
<i>Figura 25</i> .....	51
<i>Figura 26</i> .....	52
<i>Figura 27</i> .....	50
<i>Figura 28</i> .....	520
<i>Figura 29</i> .....	520

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1</i> .....	27
<i>Tabla 2</i> .....	27
<i>Tabla 3</i> .....	36
<i>Tabla 4</i> .....	41
<i>Tabla 5</i> .....	41
<i>Tabla 6</i> .....	41
<i>Tabla 7</i> .....	42
<i>Tabla 8</i> .....	43

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<i>Gráfica 1</i> .....	44
<i>Gráfica 2</i> .....	44
<i>Gráfica 3</i> .....	47
<i>Gráfica 4</i> .....	47
<i>Gráfica 5</i> .....	48
<i>Gráfica 6</i> .....	46

## RESUMEN

Las bebidas energéticas son esencialmente bebidas no alcohólicas, que contienen taurina, cafeína, glucuronolactona, inositol y complejo de vitamina B. Algunos contienen minerales y carnitina, otros contienen azúcar a una concentración del 12-14% y el resto están formulados sin azúcar. Una lata de alguna bebida energética en promedio contiene 80 mg de cafeína (y hasta 141 mg), que corresponde o en ocasiones excede el contenido de cafeína en una taza de café. Algunas bebidas contienen además cacahuates, guaraná, yerbabuena, etc., que contribuyen a elevar el contenido de cafeína, hasta 300 mg. Actualmente el consumo de estas bebidas se ha extendido considerablemente sobre todo en jóvenes en edad reproductiva es por esta razón que la presente investigación se plantea el objetivo de estudiar el efecto embriotóxico y teratogénico que la bebida energética Red Bull ® pudiera tener sobre un modelo in vivo de *Drosophila melanogaster*. Para tal fin, se establecieron los siguientes lotes de trabajo los cuales contaron con 20 larvas de tercer estadio cada uno y se realizaron por quintuplicado: lote control negativo: solución conservadora; Lotes problema: Red Bull ® presentación clásica, desgasificado a las concentraciones de 75, 50, 25 y 12.5%. Una vez eclosionados los adultos expuestos a cada uno de los lotes de trabajo (generación parental, P) se seleccionaron 5 machos y 5 hembras y se cruzaron (empleando medios a base de solución conservadora) para analizar la primera generación filial (F1). Los parámetros evaluados fueron el número de imagos que emergieron de la generación P y la F1 y las malformaciones congénitas que presentaron estos organismos. Los resultados mostraron que si bien el Red Bull ® no afecta la viabilidad de las moscas de manera significativa sí aumentó la frecuencia de malformaciones congénitas tanto en la generación parental como en la F1, específicamente a las concentraciones de 12.5 y 50% en las que se vio afectada principalmente la población de hembras a nivel abdominal, lo que nos lleva a pensar en posibles mutaciones en los genes que determinan la constitución de los ejes principales de desarrollo de *Drosophila*, específicamente del eje anteroposterior, los llamados genes maternos.

# 1. MARCO TEÓRICO

## 1. *Drosophila melanogaster* como modelo biológico

### 1.1 Antecedentes e importancia

Desde principios del siglo pasado se ha utilizado a *Drosophila melanogaster* como modelo biológico con el fin de estudiar y tratar de entender la funcionalidad de diversos genes, dado que algunos de los que controlan su desarrollo son semejantes a los de vertebrados y, en realidad, a los de muchos otros animales (Wolper *et al.*, 2007). Además, estudios realizados sobre el desarrollo en la mosca, han revelado un elevado nivel de conservación funcional de los genes en animales superiores (Rubin *et al.*, 2000), mismos que indican que no sólo la biología celular básica está conservada, sino también procesos más complejos como la formación y función de los órganos, razón por la cual *D. melanogaster* es una de las especies mejor conocidas (Petitpierre, 1997).

El primer científico en utilizar a *D. melanogaster* para sus experimentos fue T. H. Morgan en 1911 debido a que consiguió aislar un número considerable de mutantes morfológicos para el color de cuerpo, ojos, aspecto de las alas, etc., y con ello hizo posible el esclarecimiento de varios conceptos básicos de la Genética y la comprobación de la teoría cromosómica de la herencia.

Muller, Sturtevant y Bridges, estudiantes de Morgan y conocidos como el “Fly group” así continuaron realizando experimentos que sentaron las bases de gran parte de la genética eucariota entre 1910 y 1940. Muller desarrolló los primeros cromosomas equilibradores que le permitieron descubrir que los rayos X son mutagénicos, por lo que recibió el Premio Nobel en 1946. Los cromosomas equilibradores siguen siendo el medio más elegante para evitar el intercambio de información genética entre dos cromosomas homólogos, proporcionando así a los investigadores un método eficiente para mantener miles de poblaciones recesivas letales y estériles sin la necesidad de genotipado molecular. Sturtevant demostró que el fenotipo del ojo de la cepa Bar es causado por un gen expresado de forma no autónoma, vermilion, cuyos mutantes producen un ojo color bermellón en lugar del color rojo normal., un fenómeno que

desempeña un papel importante en la generación de pequeñas duplicaciones cromosómicas y deleciones relacionadas con enfermedades humanas (Lupski *et al.*, 1996). Bridges construyó el primer mapa físico de cromosomas al describir el patrón de bandas de los cromosomas de politénicos en la glándula salival de las moscas (Bridges, 1935). El trabajo de Bridges demostró la correlación entre la estructura física de los cromosomas y los grupos de ligamiento genéticamente definidos (Bellen, 2016).

## 1.2 Taxonomía



**Phylum:** Arthropoda  
**Clase:** Hexapoda  
**Orden:** Diptera  
**Familia:** Drosophilidae  
**Subfamilia:** Drosophilinae  
**Género:** *Drosophila*  
**Subgénero:** *Sophophora*  
**Especie:** *melanogaster*

*Figura 1. Drosophila melanogaster*

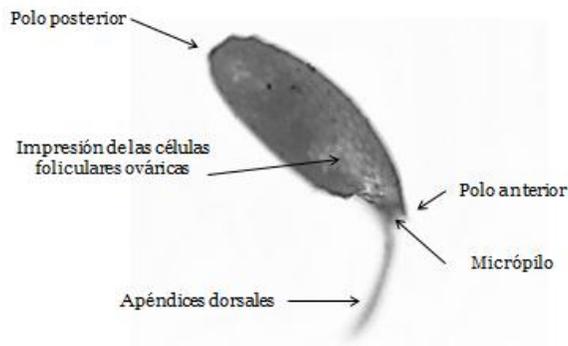
Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES- Cuautitlán. UNAM. 2015

## 1.3 Ciclo de vida

*D. melanogaster* (Fig. 1) es un organismo holometábolo, es decir, sufre una metamorfosis completa, la cual está constituida por varias fases cuya duración depende de diversos factores, entre los principales está la temperatura. A  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  el ciclo de vida se completa en 10 días aproximadamente, mientras que a  $20^\circ\text{C}$  son necesarios 15 días para ello. Es importante que los cultivos se mantengan entre los  $10$  y  $27^\circ\text{C}$ , pues a  $30^\circ\text{C}$  se observan fenómenos de esterilidad y muerte en las moscas, y a temperaturas bajas se reduce la viabilidad y el ciclo de vida se alarga notablemente (Serras *et al.*, 2001).

A continuación, se explican cada una de las etapas del ciclo biológico de *D. melanogaster*.

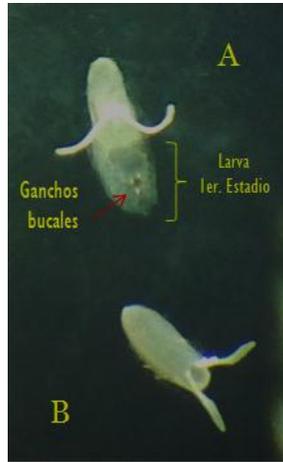
El huevo (Fig. 2) mide alrededor de 0.05 mm y es de color blanco, de forma ovalada con dos pequeñas proyecciones (filamentos) en la región anterodorsal, éstas son aplanadas y le ayudan al huevo a no hundirse en el medio de cultivo; es fertilizado durante su paso desde el oviducto hacia el útero. Después de la fecundación, el huevo inicia su desarrollo embrionario que dura aproximadamente 1 día (Brito *et al.*, 2011).



**Figura 2.** Morfología del huevo de *D. melanogaster*

Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015

La siguiente etapa es la eclosión durante la cual la larva emerge del huevo (Fig. 3) y comienza a alimentarse dejando huellas en forma de caminos o túneles en el medio de cultivo. La larva es de color blanco, segmentada y vermiforme. Tiene partes bucales de coloración negra (ganchos mandibulares) en la región cefálica. No tiene ojos. Se distinguen 12 segmentos: un cefálico, tres torácicos y ocho abdominales. Son transparentes, constan de cuerpos grasos de color blanquecino, intestino, tubos de Malpighi, gónadas que se encuentran insertadas entre los cuerpos grasos. El órgano circulatorio de la larva es un vaso dorsal musculoso y sus órganos más conspicuos son los respiratorios, un par de troncos traquéales que se extienden lateralmente de extremo a extremo. El período larvario dura entre cuatro a cinco días y es el de mayor actividad metabólica y alimentaria (Fig. 4). El desarrollo larval se caracteriza por incluir tres estadios (en el último alcanza hasta 4.5 mm. de longitud) y dos mudas larvales. La primera muda se presenta aproximadamente a las 24 horas y la segunda a las 48 horas de haber eclosionado el huevo. 96 horas después de la eclosión se forma la pupa. (Brito *et al.*, 2011).

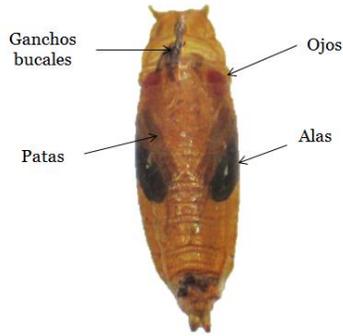


**Figura 3.** A) Larva de 1er. estadio de *D. melanogaster* emergiendo del huevo B) Huevo de *D. melanogaster*  
 Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2016



**Figura 4.** Estadios larvarios de *D. melanogaster*  
 Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015

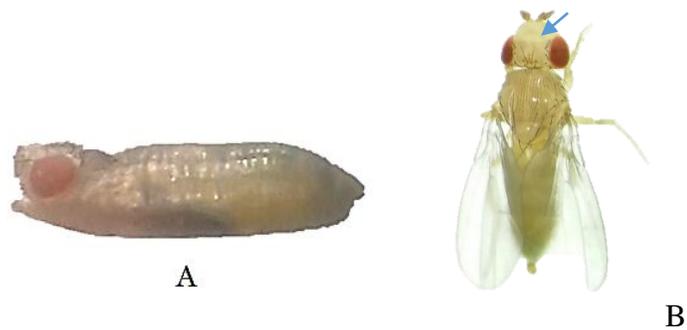
Finalmente se forma la pupa, etapa durante la cual se lleva a cabo el proceso de metamorfosis típica de los insectos holometábolos. Como en toda metamorfosis, el individuo sufre un proceso de transformación, en el cual las estructuras larvarias se degradan por histólisis para dar paso al desarrollo de los órganos que presentan los adultos. Las pupas permanecen inmóviles adheridas a las paredes internas del recipiente que las contiene en lugares donde la humedad sea la más reducida posible. Esta etapa dura alrededor de tres o cuatro días, después del transcurso de los cuales eclosiona el adulto (Fig. 5) (Castañeda *et al*, 2008).



**Figura 5.** Pupa madura de *D. melanogaster* vista ventral

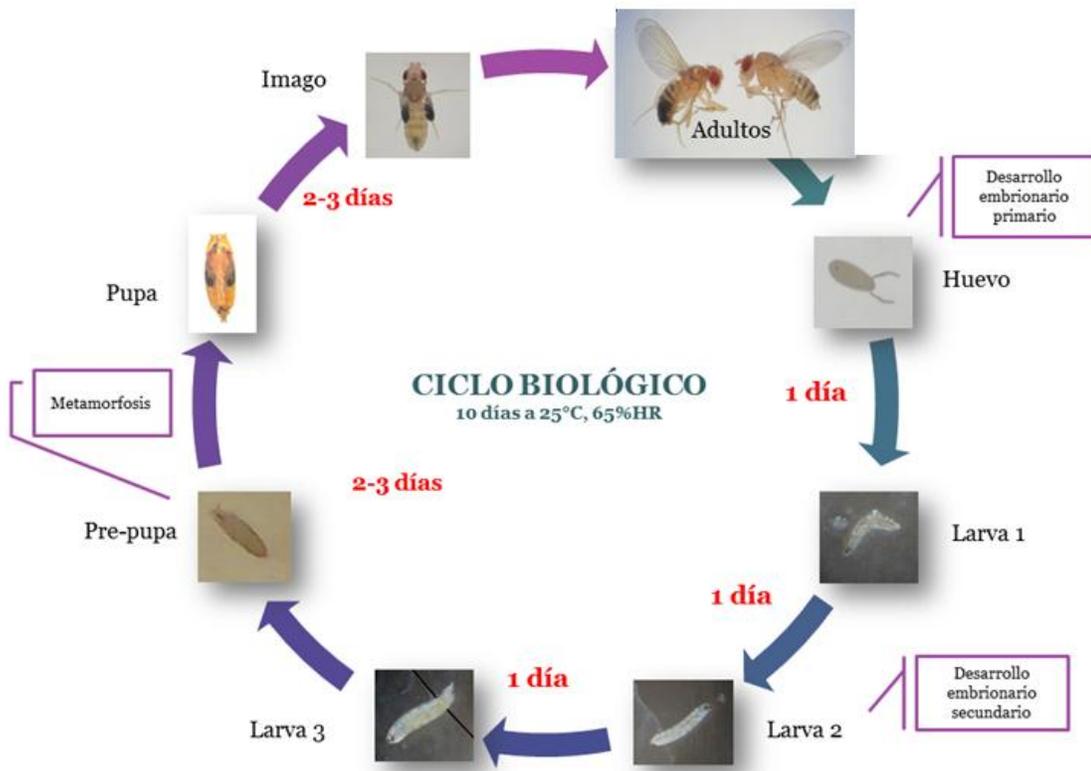
Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015

De la pupa emerge el imago (adulto inmaduro), gracias a la existencia de una abertura en la región anterior de la pupa que el imago forma al inflar la estructura denominada Ptilino sacular la cual sólo es flexible en esta etapa del desarrollo (Fig. 6). Al principio tiene las alas plegadas, pero con el tiempo se “inflan” al llenarse las venas de éstas con hemolinfa, secándose y adquiriendo su estructura normal. Apenas nacen, su cuerpo es algo más alargado que lo normal y tiene poca pigmentación. Aproximadamente 7 horas después de haber eclosionado, el adulto ya tiene desarrollado completamente su aparato reproductor, pudiendo la hembra ya aparearse y dejar descendencia e iniciar nuevamente el ciclo (Fig. 7) (Ehret *et al.*, 2016).



**Figura 6.** A) Imago de *D. melanogaster* eclosionando de la pupa B) Imago de *D. melanogaster* en el que se muestra la estructura del Ptilino sacular semi distendido

Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015

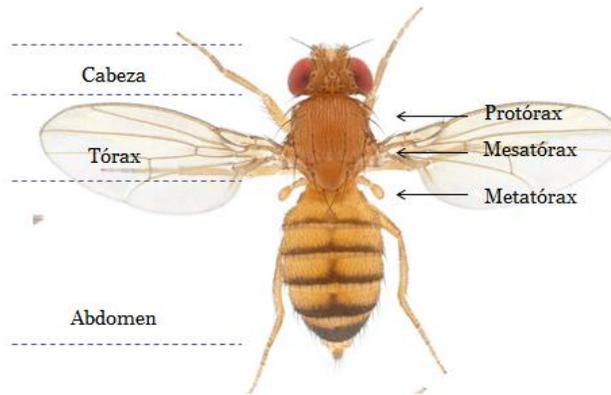


**Figura 7.** Ciclo biológico de *D. melanogaster*

Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2013

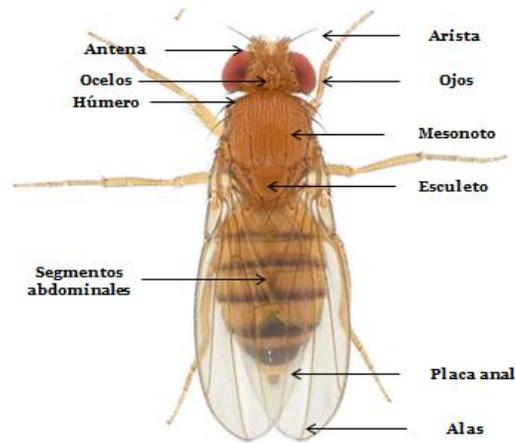
## 1.4 Morfología

*D. melanogaster* es un insecto, por lo tanto, su cuerpo está formado por tres partes principales que son: cabeza, tórax y abdomen (Fig. 8). En la cabeza se observa un par de ojos compuestos y ojos simples (ocelos), un par de antenas, cada una de ellas presenta una arista (Fig. 9). El tórax a su vez se divide en protórax, mesotórax y metatórax. Unido a él se encuentran 3 pares de patas, un par de halterios (estructuras de equilibrio) y un par de alas. El abdomen presenta segmentos y, en la parte final la placa anal (Navarrete, 2013).



**Figura 8.** Principales segmentos de *D. melanogaster*, Hembra, vista dorsal

Fuente: Gumpel, 2013



**Figura 9.** Anatomía básica de *D. melanogaster*, Hembra, vista dorsal

Fuente: Gumpel, 2013

### 1.5 Cepa Silvestre

Corresponde al fenotipo normal de *D. melanogaster*: el cuerpo es de color sepia con ojos grandes y rojos, las alas sobrepasan la longitud del abdomen y son transparentes y ligeramente puntiagudas (Fig. 10). Las nerviaciones de las alas están compuestas por 5 venas longitudinales y dos transversales. El número y disposición de las cerdas o quetas también es característico, especialmente en el caso de las macroquetas. Entre todas las macroquetas de *D. melanogaster*, las de las regiones dorsocentral y escutelar son tan estables, en número y localización, que pueden considerarse modelo de constancia fenotípica y de canalización. Lo normal son cuatro quetas en cada una de esas regiones; y en ambas se hallan localizadas

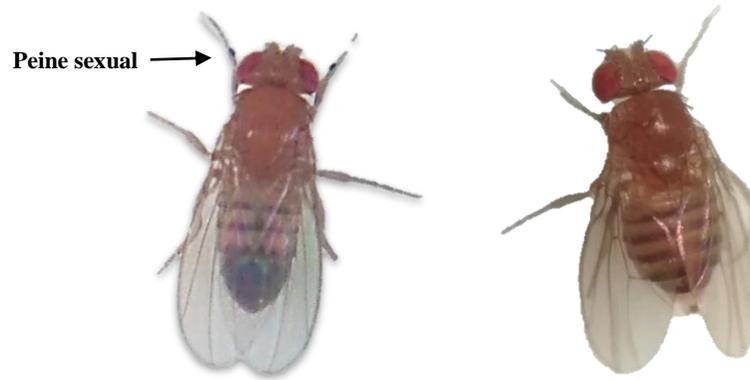
según un patrón muy preciso de distribución, con simetría bilateral y antero-posterior. (Ramos, 1993).



**Figura 10.** Fenotipo característico de *D. melanogaster* cepa Silvestre. Vista lateral de un macho (izquierda) y una hembra(derecha)  
Fuente: Bonilla, 2018

### **1.6 Dimorfismo sexual**

La diferenciación entre machos y hembras (Fig. 11) es fácil y se puede llevar a cabo tanto a simple vista como con ayuda de una lupa o microscopio estereoscópico. Las hembras presentan mayor tamaño que los machos y tienen el extremo abdominal más afilado destacándose mejor la placa anal. Examinándola en posición ventral, se puede observar también la placa vaginal (ovopositor). Una hembra puede empezar a depositar los huevos desde el segundo día después de emerger, y podrá estar ovopositando huevos durante 10 días aproximadamente, tiempo tras el cual puede haber depositado alrededor de 400-500 huevos (Ehret *et al.*, 2016). Las hembras presentan de cinco a seis franjas pigmentadas bien definidas en el dorso del abdomen, mientras que en el macho las últimas tres se fusionan dando la apariencia de una sola franja.



**Figura 11.** Dimorfismo sexual de *D. melanogaster*. Vista dorsal de un macho (izquierda) y una hembra (derecha)

*Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2018*

Por su parte, el macho es de menor tamaño, presentando el extremo abdominal más redondeado. En el macho se reconoce únicamente la placa anal, ya que la porción externa del aparato genital es paralela a la superficie ventral. Otra característica distintiva es la presencia del peine sexual en los machos (Fig. 11), estructura que consiste en una fila de cerdas cortas de color negro ubicadas en la región basal distal del primer par de patas (metatarso). La longevidad del adulto puede alcanzar un mes o más. Los machos suelen vivir menos tiempo que las hembras. (Navarrete, 2013).

## **2. Teratogénesis**

### **2.1 Definición**

Se define como teratogénesis o dismorfogénesis a la alteración morfológica, bioquímica o funcional, inducida durante el embarazo que es detectada durante la gestación, en el nacimiento o tiempo después de éste. Dichas alteraciones pueden clasificarse en mayores, por ejemplo, focomelia o menores, por ejemplo, retraso en el desarrollo del comportamiento (Pérez *et al.*, 2002).

La teratogénesis produce malformaciones estructurales durante el desarrollo fetal, como retraso del crecimiento, displasia (por ejemplo, bocio relacionado con la deficiencia de yodo) o la reducción asimétrica de las extremidades. La exposición del producto químico teratogénico antes de la concepción, durante el desarrollo prenatal o postnatal, conduce a manifestaciones de toxicidad del desarrollo incluyendo la muerte del organismo en desarrollo, anomalías estructurales, crecimiento alterado y/o deficiencia funcional. Los factores comprenden no sólo los productos químicos, sino también los microorganismos, incluyendo infecciones, condiciones maternas y enfermedades como la diabetes y factores físicos como las radiaciones (Prasad *et al.*, 2014).

### **2.2 Teratógenos**

Un agente teratogénico o teratógeno es aquel que actúa alterando el crecimiento, la estructura o la función del embrión o feto en desarrollo. No es lo mismo un agente teratógeno que una exposición teratogénica, debido a que en esta última son importantes las dosis y la vía de administración. Así mismo, la mayoría de las drogas llegan al feto a través de la sangre materna, por lo tanto, la exposición embrionaria y fetal depende de varios factores críticos como: edad gestacional al momento de la exposición, absorción de la droga, niveles séricos maternos, etc. Es necesario que el agente teratógeno atraviese la barrera placentaria para que ejerza su efecto, y este paso a través de la placenta está determinado por el metabolismo

materno, la edad gestacional, la unión a proteínas, la carga iónica, la liposolubilidad y el tamaño molecular (Petracchi, 2015).

## **2.3 Clasificación general de los teratógenos**

Los teratógenos se clasifican según su origen en: biológicos, físicos, químicos y otros (Fig.12).

### **2.3.1 Teratógenos Biológicos**

Los teratógenos biológicos son agentes que provienen de virus, bacterias o protozoarios que desencadenan alteraciones morfológicas o funcionales en el embrión. Dentro de los agentes causantes de infecciones del tipo viral se encuentran: rubeola, citomegalovirus, herpes, varicela, virus de inmunodeficiencia humana (VIH), sarampión, parotiditis, hepatitis, poliomielitis y la influenza. En cuanto a bacterias: sífilis congénita y gonorrea. Y por último protozoos como toxoplasma (Boza *et al.*, 2014).

Efectos reconocidos en el feto incluyen muerte fetal, retardo en el crecimiento intrauterino, defectos congénitos y retardo mental. La patogénesis de estas anomalías puede generalmente ser atribuida a una invasión directa del feto, produciendo inflamación del tejido fetal y muerte celular. Muchos, si no todos estos defectos, son disruptivos. Si el agente es capaz de producir una invasión directa al sistema nervioso central, podría causar microcefalia, calcificaciones cerebrales, retardo mental, desórdenes del desarrollo motor, alteraciones del tono muscular y deficiencias visuales y/o auditivas. No es poco frecuente que estas deficiencias sensoriales se encuentren asociadas a defectos neurológicos severos. La infección prenatal por un agente infeccioso suele producir prematuridad, retardo en el crecimiento intrauterino, ictericia, cardiopatía y otras múltiples alteraciones (Rodríguez, 2010).

### 2.3.2 Teratógenos Físicos

Existe una amplia variedad de agentes físicos que son potencialmente teratogénicos. Dentro de los más importantes se incluyen la radiación ionizante (puede tener efectos teratogénicos, mutagénicos o carcinogénicos), factores mecánicos y el aumento excesivo de temperatura (hipertermia). Con respecto a las radiaciones de baja energía como las ondas sonoras y microondas no se consideran realmente teratogénicos. (Boza *et al.*, 2014).

### 2.3.3 Teratógenos Químicos

Este tipo de teratógenos son aquellos que al actuar cuando se forma el embrión causan diversas malformaciones orgánicas. En ocasiones, un mismo compuesto actúa como tóxico o como teratógeno dependiendo de la etapa en la cual se produjo la exposición a él. Los teratógenos químicos durante las dos primeras semanas de desarrollo, pueden matar al embrión o no tener efecto alguno, de la misma forma, durante la formación de los órganos se puede alterar el desarrollo y pueden producir defectos congénitos mayores, en particular se ve afectado el cerebro y los ojos. Algunos ejemplos de teratógenos químicos son las anfetaminas, sales de litio, hormonas sexuales y algunos fármacos (Boza *et al.*, 2014).

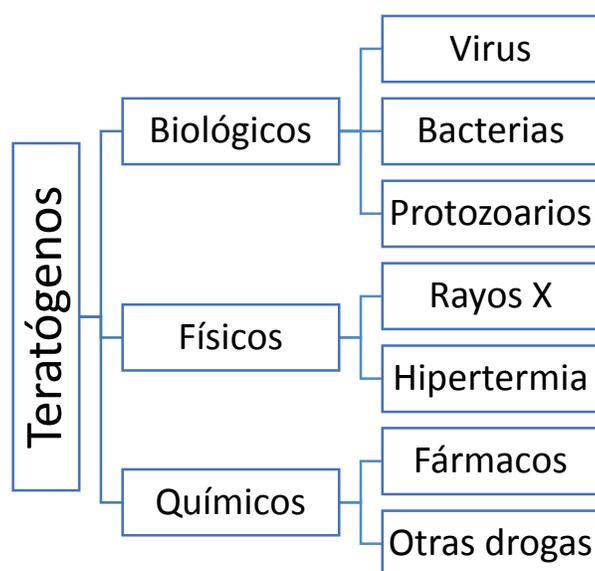


Figura 12. Clasificación general de los teratógenos. De elaboración propia.

## 2.4 Clasificación de la FDA para teratógenos químicos

La clasificación de la Food and Drug Administration (FDA) es ampliamente utilizada y consultada por médicos de todo el mundo para tomar decisiones en cuanto a suspender, continuar o indicar medicamentos durante el embarazo. Sin embargo, la mayoría de los medicamentos pertenecen a la categoría C (los riesgos no han podido ser excluidos en humanos, pero los beneficios parecen sobrepasar los riesgos) y sólo el 1% de los medicamentos pertenecen a la categoría A (sin riesgo en humanos), no obstante, y a pesar de la clasificación, existen algunas drogas de categoría X (clara evidencia de que la medicación causa anomalías en los fetos) que no están absolutamente contraindicadas durante el embarazo y muchas de las categorías C y D son teratógenos humanos conocidos o tienen efectos adversos fetales severos (Petracchi, 2015).

Hay una cantidad amplia de fármacos y medicamentos de carácter teratogénico. Los principales y más peligrosos llegan a ser aquellos que son utilizados en el tratamiento de algunas enfermedades crónicas que se pueden presentar en la madre como la diabetes tipo 1, hipertensión arterial, entre otras. Para esta amplia lista de fármacos fue diseñada una clasificación donde los divide según su capacidad teratogénica y se muestra a continuación:

- **Categoría A:** Aquí se encuentran aquellos fármacos que son considerados seguros en el embarazo como el ácido fólico, vitaminas, entre otros. Los estudios controlados en mujeres no evidencian riesgo para el feto durante el primer trimestre y la posibilidad de daño fetal es remota.
- **Categoría B:** Son aquellos que tienen utilidad durante el embarazo para el tratamiento de alguna enfermedad crónica que presente la madre, por ejemplo, la insulina o la cortisona y también incluye sustancias usadas como endulzante en bebidas y comidas, por ejemplo, el aspartame. Los estudios en animales no indican riesgo para el feto y no existen estudios controlados en humanos o los estudios en animales sí indican un efecto adverso para el feto, pero, en estudios bien controlados con mujeres gestantes no se ha demostrado riesgo fetal.

- **Categoría C:** Aquí se agrupan los medicamentos que puedan ocasionar algún nivel de daño en la madre o en el feto, incluye de igual manera aquellos fármacos que se encuentran en prueba para verificar si ocasionan o no daño en el embarazo. Generalmente estos fármacos de categoría C (Tabla 1) vienen con una etiqueta de advertencia sobre su teratogenicidad. Los estudios en animales han demostrado que el medicamento ejerce efectos teratogénicos o embriocidas, pero, no existen estudios controlados o concluyentes.
- **Categoría D:** Incluye las medicinas que se sabe han causado problemas de salud en la madre o en el feto, por ejemplo, la fenitoína. Existe evidencia positiva de riesgo fetal en humanos, pero, en ciertos casos (por ejemplo, en situaciones amenazantes o enfermedades graves en las cuales no se pueden utilizar medicamentos más seguros o los que se pueden utilizar resultan ineficaces), los beneficios pueden hacer el medicamento aceptable a pesar de sus riesgos.
- **Categoría X:** Son los medicamentos que han causado defectos de nacimiento y que bajo ninguna circunstancia deben tomarse durante el embarazo, como por ejemplo la talidomida (tratamiento contra la lepra). Los estudios en animales o en humanos han demostrado anomalías fetales o existe evidencia de riesgo fetal basada en la experiencia con seres humanos, o son aplicables las dos situaciones, y el riesgo supera claramente cualquier posible beneficio (FDA, 2012).

## 2.5 Tipos de defectos congénitos

Los defectos congénitos pueden presentarse de muy variadas maneras. Pueden estar solos o acompañados de otras alteraciones; en estos casos, la asociación puede ser al azar o puede tomar un patrón específico recurrente. Esto es lo que se conoce como defectos aislados o múltiples, respectivamente (Rodríguez *et al.*, 2010).

### 2.5.1 Anomalía menor y Anomalía mayor

Un defecto congénito *mayor*, puede ser definido como un defecto que de no ser corregido compromete significativamente el funcionamiento corporal normal, o que reduce la

expectativa normal de vida. Ejemplos de esto pudieran ser la estenosis pilórica, el labio y paladar hendido o las cataratas. Se cree que alrededor del 3% de los recién nacidos presentan alguna anomalía congénita mayor. Esta cifra puede subir a un 5 o 6%, dado que algunas anomalías no son evidentes desde el nacimiento y sólo presentan alteraciones funcionales un poco más tarde. Por otro lado, la anomalía *Menor* es aquella alteración que tiene primariamente una significación cosmética, pero no compromete tan seriamente la forma o funcionalidad corporal. Suelen encontrarse en menos del 4% de los individuos normales, por lo general son aisladas y pueden presentarse en familias, frecuentemente con patrón de herencia autosómico dominante. Se estima que en el 13% de los bebés recién nacidos se diagnostica una anomalía menor. Menos del 1% de ellos tienen dos anomalías no relacionadas y aproximadamente, 1 de cada 2000 presenta simultáneamente tres anomalías menores no relacionadas. Sin embargo, en todo recién nacido que tenga tres o más anomalías menores, debe considerarse la presencia de un síndrome dismórfico. Lo más importante es saber diferenciar entre una anomalía menor y una variante normal. El término "variante normal", por su parte, se aplica a aquellos hallazgos físicos que caen en el espectro de la configuración normal del ser humano, pero que no son los que suelen estar presentes en la gran mayoría de las personas (Rodríguez *et al.*, 2010).

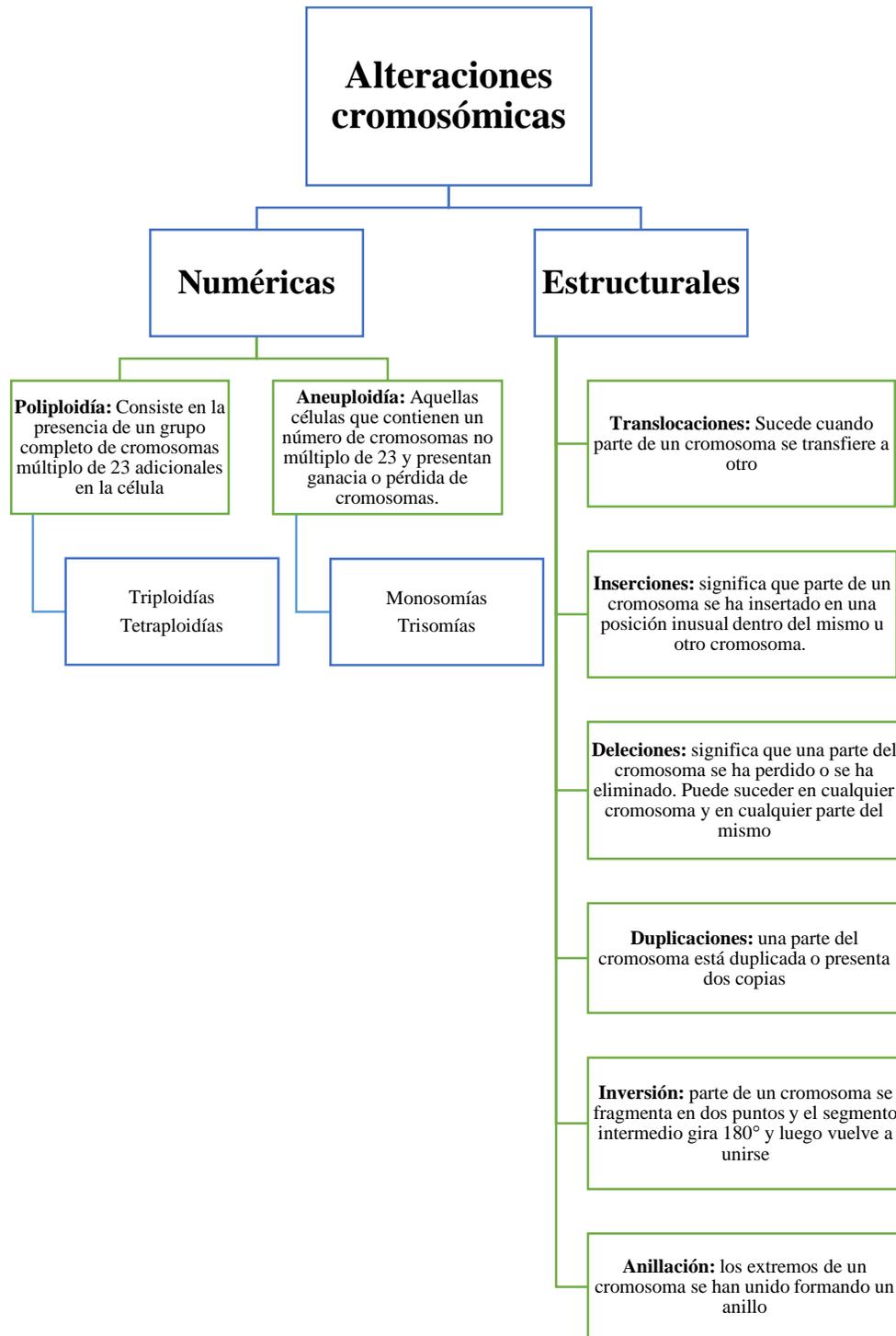
## **2.6 Mecanismos de producción de malformaciones congénitas**

### **2.6.1 Mutaciones**

Una mutación es cualquier cambio que se produce en la secuencia de nucleótidos del material genético de un individuo. Se refiere, por tanto, a cualquier cambio que se produzca en el material hereditario del individuo que en la inmensa mayoría de los seres vivos es ADN, estas se clasifican a nivel celular en somáticas y germinales y a nivel molecular en génicas y cromosómicas (Fig. 13 y 14).



*Figura 13. Clasificación de los diferentes tipos de mutaciones. De elaboración propia.*



**Figura 14.** Clasificación de los diferentes tipos de alteraciones cromosómicas. De elaboración propia,

### **2.6.2 Interferencia mitótica**

El momento en el cual el agente teratogénico interactúa en el desarrollo fetal es crítico para determinar el tipo y la extensión del daño. El desarrollo fetal de mamíferos pasa por tres fases principales: formación de blastocistos, organogénesis, histogénesis y maduración de la función. Muchos teratógenos tienen la capacidad de inhibir la división celular y matar el embrión durante la división celular. El tipo de malformación que el teratógeno puede producir depende principalmente del tiempo de exposición. El desarrollo del feto depende de un suministro adecuado de nutrientes durante la etapa final de la histogénesis y la maduración funcional, y el desarrollo está regulado por una variedad de hormonas. Las malformaciones estructurales no surgen de la exposición a mutágenos en esta etapa, pero los teratógenos que interfieren con el suministro de nutrientes o el medio hormonal pueden tener efectos mortales en su crecimiento y desarrollo (Prasad *et al.*, 2014).

### **2.6.3 Nivel bioquímico de acción de teratógenos**

Hoy se conoce el mecanismo bioquímico a través del cual actúan casi todos los teratógenos en el hombre. Uno de los más importantes es el antagonismo por inhibición competitiva, que se da por ejemplo en las sustancias alquilantes como antagonistas de las purinas y pirimidinas y en la aminopterina y talidomida como antagonistas del ácido fólico. Efectos similares presentan los teratógenos que disminuyen el nivel de folato, como son los anticonvulsivos y el alcohol. Cuando se analizan los mecanismos bioquímicos en que actúan los teratógenos se comprueba que en su mayor parte lo hacen en los niveles más complejos, sea en el ADN mismo, como las radiaciones ionizantes, o en niveles controlados directa o indirectamente por el material genético (Tabla 2). Esto se da a partir de metabolitos reactivos que pueden producir enlaces covalentes aleatorios en los ácidos nucleicos de las células y/o proteínas; daños en la reparación del ADN; degradación del ARN y proteínas; alteraciones en la división y migración celular; errores de transcripción y traducción; en el transporte de iones y en la modificación del pH de la célula (UCC, 2004)

**Tabla 1. Malformaciones asociadas a los medicamentos de uso frecuente en el embarazo**  
Fuente: Morgan, 2015

<b>Medicamentos de uso frecuente</b>	
<b>Inhibidores de la ECA</b>	Oligoamnios, hipocalvaria, falla renal, cardiopatías y anomalías del SNC.
<b>Isotretinoína</b>	Malformaciones severas del SNC, cardiovasculares y endocrinológicas.
<b>Metotrexate</b>	Malformaciones craneofaciales, esqueléticas, cardiopulmonares, gastrintestinales y RM.
<b>Warfarina</b>	SNC: agenesia del cuerpo calloso, Malformación de Dandy Walker, atrofia óptica y bajo CI.
<b>Anticonvulsivantes</b>	Anomalías faciales, del SNC, del tubo neural y cardíacas.
<b>Misoprostol</b>	Defectos del cráneo, parálisis de nervios de pares craneales, malformaciones faciales y de los miembros.
<b>Litio</b>	Arritmias, hipoglucemia, diabetes insípida nefrogénica, alteración en la función tiroidea, cardiopatías. La anomalía de Ebstein fue asociada pero no confirmada en estudios prospectivos.
<b>Metimazol</b>	Aplasia cutis, atresia de esófago y atresia de coanas.
<b>Ansiolíticos</b>	No hay evidencia de riesgos significativos: leve aumento de fisura labio-alveolo-palatina. Puede producir depresión del SNC.
<b>Antidepresivos</b>	No hay grandes evidencias de riesgos, sí dificultades transitorias de adaptación neonatal. La paroxetina ha sido asociada con leve riesgo de cardiopatías.
<b>Penicilamina</b>	Anomalías del tejido conectivo.
<b>Hormonas</b>	Hipospadias y masculinización han sido sugeridas pero a altas dosis.

ECA: Enzima convertidora de la angiotensina

SNC: Sistema nervioso central

CI: Coeficiente intelectual

**Tabla 2. Nivel bioquímico de acción de los teratógenos**  
Fuente: Chuaqui, 2002

<b>NIVEL BIOQUÍMICO DE ACCIÓN DE LOS TERATÓGENOS</b>	
<b>Nivel bioquímico</b>	<b>Teratógeno</b>
<b>ADN cromosómico</b>	Virus, radiaciones ionizantes, sustancias alquilantes, antibióticos, esteroides.
<b>ARN mensajero</b>	Virus
<b>Reacciones de transferencia de grupos metilo, síntesis de ARN</b>	Antimetabolitos (antagonistas del ácido fólico), alcohol, anticonvulsivantes, litio (antagonista del magnesio).
<b>Síntesis de proteínas</b>	Antibióticos
<b>Oxidación fosforilativa</b>	Substancias alquilantes *
<b>Ciclo de Krebs</b>	Insulina*
<b>Glicolisis</b>	Insulina*
<b>Consumo de glucosa</b>	Insulina*
<b>Consumo de oxígeno</b>	Hipoxia*

\*Estudio en proceso, o no hay evidencias concluyentes.

### **3. Bebidas energéticas**

#### **3.1 Historia de las bebidas energéticas**

Las primeras bebidas energéticas se originaron principalmente en Europa y Asia en la década de 1960. En 1987 se introdujo en Austria una de las marcas más conocidas del mundo (Red Bull®), cuyas ventas han crecido exponencialmente desde entonces. Actualmente se han creado alrededor de 500 marcas nuevas en el mundo. En México, las bebidas energéticas se comenzaron a comercializar durante el año 2000, y en los últimos seis años se han convertido en las “bebidas de moda” de adolescentes y adultos jóvenes, sobre todo en periodos de exámenes, en las noches de antro, en los centros deportivos e incluso en los propios hogares, para “rendir más” (López, 2015).

Su nombre remite al apodo que se les tenía a las anfetaminas mayormente utilizadas durante los años 60 y 70. La similitud se debe al hecho de que las anfetaminas y las metanfetaminas como el 3,4-metilendioxi-metanfetamina (MDMA o éxtasis) evitan el sueño y la fatiga, ‘función’ principal de estas bebidas (Cáceres, 2013).

Se estima que actualmente, se producen alrededor de 3000 millones de envases de bebidas energéticas por año, con un crecimiento constante. Sin embargo, aún se desconocen sus características, ingredientes utilizados en sus formulaciones, grado de seguridad en su consumo y posición dentro de las normas alimentarias, entre otros (Melgarejo, 2004).

#### **3.2 ¿Qué son las bebidas energéticas?**

Las bebidas energéticas son sustancias estimulantes, que inicialmente fueron utilizadas por deportistas debido a la carga energética que generan. En principio, fueron creadas para incrementar la resistencia física, proveer reacciones más veloces a quien las consumía, lograr un nivel de concentración mayor, evitar el sueño, proporcionar sensación de bienestar, estimular el metabolismo y ayudar a eliminar sustancias nocivas para el cuerpo (Cáceres, 2013).

Se les puede clasificar como un alimento funcional, ya que han sido diseñadas para proporcionar un beneficio específico, el de brindar al consumidor una bebida que le ofrezca vitalidad cuando, por propia decisión o necesidad, debe actuar ante esfuerzos extras, físicos o mentales (Melgarejo, 2004).

El consumo de estas bebidas puede llegar a causar insomnio, nerviosismo, dolor de cabeza y taquicardia en quien las ingiere. Además, el consumo de cafeína reduce la sensibilidad a la insulina y aumenta la presión arterial media. Los consumidores también pueden experimentar síntomas de reflujo gastroesofágico y dolor abdominal (Hurlock, 2011).

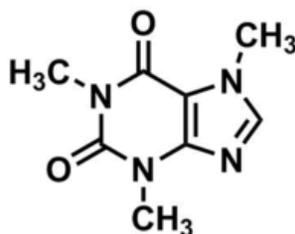
### **3.3 Composición de las bebidas energéticas**

Una lata de bebida energética clásica, con un contenido neto de 250 ml, está compuesta por agua carbonatada, sacarosa, glucosa, citrato de sodio como regulador de acidez, taurina (400 mg/100 ml), glucuronolactona (240 mg/100 ml), cafeína (32 mg/100 ml), inositol, vitaminas (niacina, ácido pantoténico, B6, B12), saborizantes artificiales y colorantes (caramelo, riboflavina) (Gantiva, 2008).

#### **3.3.1 Cafeína**

Es una sustancia que pertenece a la familia de las metilxantinas, que también incluye otros compuestos similares, como son la teofilina y la teobromina. 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 (Fig 15). Se metaboliza en el hígado y los primeros productos son las dimetilxantinas. La cafeína provoca un estímulo al cerebro, al disminuir la acción de la adenosina, un transmisor nervioso que produce calma. Se genera entonces una sensación de vitalidad, de fuerza durante algunas horas. Este estado de alerta hace que se aumente la concentración y la resistencia a los esfuerzos físicos y mentales. La cafeína estimula la secreción de saliva y de los jugos gástricos, favoreciendo la digestión (Melgarejo, 2004).

No es que estas bebidas hagan daño a la salud, sino que alteran el estado normal del organismo pues estimulan el sistema nervioso central, el corazón, el sistema respiratorio, y producen un aumento de la presión arterial. En general, no es recomendable que las personas con problemas gástricos, niños, y mujeres embarazadas o en lactancia, ingieran bebidas energéticas por su contenido de cafeína. Un vaso de refresco de cola contiene entre 30 y 45 mg de cafeína, una taza de té entre 30 y 70, una lata de bebida energética entre 30 y 85, y una taza de café entre 90 y 150 mg. Una dosis alta de cafeína al día es de 500 a 800 mg (Juárez *et al.*, 2015).



*Figura 15.*

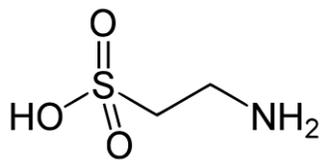
*Figura 15. Estructura química de la cafeína*  
*Fuente: Juárez et al., 2015*

### 3.3.2 Taurina

Su nombre químico es ácido 2-aminoetanosulfónico (Fig. 16). Es diferente de los otros aminoácidos, ya que contiene un grupo ácido sulfónico, en lugar de un grupo ácido carboxílico y no se incorpora a las proteínas, sino que se encuentra en estado libre en el organismo, principalmente en el músculo, las plaquetas y el sistema nervioso en desarrollo. 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. La taurina está involucrada en varios procesos fisiológicos, como la síntesis de ácidos biliares, osmoregulación, desintoxicación de xenobióticos, estabilización de membranas celulares, modulación del flujo celular del calcio y modulación de la excitabilidad neuronal. La ingesta diaria promedio normal de taurina en los seres humanos se estima entre 40 y 400 mg. Es considerada esencial para el desarrollo de infantes y, en consecuencia, se adiciona en las fórmulas preparadas para esa edad. Es un ingrediente

benéfico para eliminación de sustancias perjudiciales, ocasionadas por situaciones de estrés. No se han encontrado evidencias de daños provocados por su ingesta (Melgarejo, 2004).

En promedio, una lata de 250 ml de bebida energética contiene 1000 mg de taurina, sin embargo, hasta ahora no se le ha asociado ningún efecto negativo. De hecho, es común su consumo en suplementos para deportistas en las dosis indicadas (de 5 a 10 g por día), ya que mejora la fuerza del corazón, la digestión de las grasas, y regula la tonicidad muscular (Juárez *et al.*, 2015).



*Figura 16. Estructura química de la taurina*  
Fuente; Juárez *et al.*, 2015

### 3.3.3 Extractos de hierbas

En algunas bebidas energéticas se emplean extractos de guaraná, donde el principio activo es la cafeína, lo mismo que en el de yerba mate. Otro extracto que se usa en menor escala es el de ginseng (*Panaxquinque folium* y *Panax ginseng*), en cuyo caso las sustancias presentes son diferentes a la cafeína y corresponden al grupo de las saponinas. Ninguno de ellos se ha sometido a experimentación, por lo tanto, no existe evidencia de las propiedades, componentes, ni efectos secundarios que pudieran producir (Profeco, 2015).

#### 3.3.3.1 Guaraná

Es un gran arbusto leñoso nativo del Amazonas, utilizado como planta medicinal. Contiene altas concentraciones de cafeína y se ha utilizado como estimulante, supresor del apetito, para el dolor de cabeza, el exceso de trabajo mental, la fatiga en ambiente caluroso y más recientemente para la pérdida de peso. Como cualquier producto con cafeína, la guaraná puede causar insomnio, temblor, ansiedad, palpitaciones, poliuria e hiperactividad. No la deben consumir personas con problemas cardiacos o con hipertensión, enfermedades renales, hipertiroidismo o desórdenes de ansiedad o nerviosos; tampoco se recomienda en niños ni en

mujeres durante el embarazo o durante el período de lactancia. No ha sido evaluada por la FDA en cuanto a seguridad, efectividad y pureza. Hasta ahora no se conocen bien los riesgos potenciales o ventajas de su consumo. Además de que la NOM 218-SSA1-2011 establece que en ningún caso la ingesta de cafeína debe exceder de 20 mg/100 ml, sin embargo, algunas bebidas llegan a tener hasta 142 mg por envase (López, 2015).

### **3.3.3.2 Ginseng**

Contiene cerca de 30 ginsenósidos, conocidos por el nombre científico de saponinas triterpénicas o panoxisidos. Estos ginsenósidos tienen una fuerte acción, que ayuda al cuerpo a adaptarse y recobrase de efectos provenientes del estrés, enfermedades y fatigas. El ginseng también contiene algunos compuestos esteroideos, incluyendo el panaxtriol, similar al del cuerpo humano (Melgarejo, 2004).

La utilización tradicional es para restaurar la energía. En animales ésta produce estimulación del sistema nervioso central o también lo puede deprimir. No existe evidencia científica que demuestre que el ginseng incrementa la tolerancia al ejercicio y el rendimiento atlético. Sin embargo, puede mejorar la sensación general de bienestar. Algunos estudios sugieren que puede incrementar la presión arterial (se ha relacionado con hipertensión) y los niveles de estrógenos en las mujeres (por ello no se recomienda en pacientes con cáncer de seno). Es importante evitar mezclarla con medicamentos como aspirina y con anticoagulantes (dipiridamol, warfarina), porque esta hierba podría incrementar este efecto y causar sangrado espontáneo. Igualmente, debe evitarse en personas que toman medicamentos tipo digitálicos (medicamentos utilizados para tratar afecciones cardíacas) (Juárez, 2015).

### **3.3.3.3 Schizandra**

Es una hierba medicinal tradicional en China que se ha utilizado como astringente, para el tratamiento de la tos, asma, sudoración nocturna y diarrea crónica; también es utilizada para el tratamiento de la fatiga crónica. Se ha clasificado como adaptógeno. Se recomienda no utilizarla en embarazadas ni en personas con hipertensión arterial, pacientes con úlcera

péptica o epilepsia. Se compone de vitaminas C y E, y alcaloides como magnolamina, magnolina, schizandrina y esquizandrinas (Cáceres, 2013)

#### **3.3.3.4 Damiana**

La damiana, hierba de la pastora o té de México (*Turnera diffusa*) es muy conocida por las propiedades afrodisiacas que se les atribuyen a sus hojas. Es un pequeño arbusto de hasta 2 m de altura, con hojas lanceoladas y flores solitarias de color amarillo dorado. Crece en Norteamérica, América del Sur y África, sus hojas se recolectan en verano, cuando la planta está en flor. La describen como purgante, diurético, tónico, estimulante y afrodisíaco (Cáceres, 2013).

#### **3.3.3.5 Mate**

*Ilex paraguariensis*, yerba mate, yerba de los jesuitas o yerba del Paraguay, es una especie arbórea neotropical originaria de las cuencas del Alto Paraná, Alto Uruguay y algunos afluentes del Río Paraguay, donde crece en un estado silvestre, sobre todo formando parte del sotobosque o del estrato mediano de los montes. Se dice que su té es un tónico, diurético, diaforético y poderoso estimulante. En altas dosis puede producir vómito y diarrea. Contiene vitaminas del grupo B, xantinas y magnesio (Cáceres, 2013).

### **3.3.4 Carbohidratos**

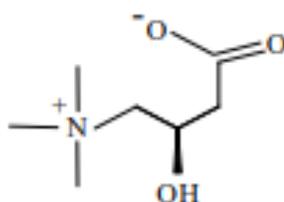
La mayoría de estas bebidas contienen cerca de 20 a 30 gramos de carbohidratos, incluso alguna de ellas hasta 70 gramos, en forma de fructosa, sacarosa, dextrosa, glucosa y maltodextrinas. Teniendo en cuenta su alto contenido de carbohidratos no es recomendado ingerirlas antes o durante el ejercicio debido a que retardan el vaciado del estómago y la posterior absorción intestinal (Cáceres, 2013).

### 3.3.5 Vitaminas

Se encuentran todas las vitaminas del complejo B, así como vitaminas C y E. Sin embargo, múltiples investigaciones han comprobado que la adición de éstas no ofrece ningún beneficio extra siempre y cuando la persona mantenga una recomendación nutricional óptima según su edad, género y demandas físicas (Cáceres, 2013).

### 3.3.6 Carnitina

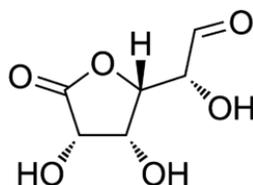
Es una amina cuaternaria que actúa en el metabolismo de las grasas (Fig. 17). Es necesario para la oxidación de las grasas a nivel de la mitocondria de las células. Se ha sugerido que podrían incrementar el rendimiento deportivo por mecanismos tales como incremento de la oxidación de ácidos grasos, alterando la homeostasis de la glucosa, aumentando la producción de acilcarnitina, modificando la respuesta al entrenamiento y mejorando la resistencia de la fatiga muscular. Sin embargo, los estudios disponibles hasta ahora no permiten dar conclusiones, pero sugieren que un complemento no incrementa la máxima captación de oxígeno durante el ejercicio o el reposo, ni el rendimiento deportivo. Igualmente, varios estudios controlados han evidenciado que no ayuda a perder peso o reducir grasa corporal por incrementar la oxidación de grasa y reducir la degradación de glucógeno durante ejercicio prolongado de ciclismo o atletismo ni mejorar el rendimiento deportivo. Luego de su ingesta, se puede observar incremento a nivel plasmático, pero no a nivel muscular. Normalmente las personas sanas producen suficiente carnitina para mantener las funciones del organismo. Cerca del 98 % de la carnitina está presente en el músculo esquelético y el corazón (Bentebibel, 2009).



*Figura 17. Estructura química de la carnitina  
Fuente: Bentebibel, 2009.*

### 3.3.7 Glucuronolactona

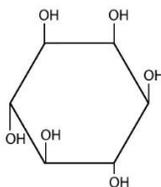
Aparentemente cumple con una función detoxificante (Cáceres, 2013). La produce el cuerpo humano y está involucrada en varios procesos metabólicos (Fig. 18), que se originan en el hígado; el ácido glucurónico, el precursor metabólico inmediato de la glucuronolactona, es esencial para la desintoxicación y el metabolismo, mediante conjugación en el hígado, de una amplia variedad de sustancias que finalmente se eliminan por la orina, neutraliza los elementos nocivos producidos por el propio organismo en situaciones de estrés, cansancio mental y/o físico (Profeco, 2015).



*Figura 18. Estructura química de la Glucuronolactona.  
Fuente: Profeco, 2015.*

### 3.3.8 Inositol

El cuerpo lo puede producir desde la glucosa, por ello no es realmente esencial (Fig.19). El inositol como fosfatidilinositol tiene su función primaria en la estructura e integridad de la membrana celular y al igual que la colina puede ayudar en la nutrición celular del cerebro. Es especialmente importante en las células de la médula ósea, tejidos del ojo e intestinos. Se ha utilizado en el tratamiento y prevención de aterosclerosis por ayudar a disminuir el colesterol, sin embargo, no existe evidencias contundentes sobre este efecto (López, 2015).



*Figura 19. Estructura molecular del inositol.  
Fuente: López, 2015*

### 3.4 Efectos negativos de las bebidas energéticas

Cuando se abusa del consumo de bebidas energéticas, como de cualquier otro producto con cafeína, el sistema nervioso puede verse afectado. Estudios recientes han mostrado que el consumo de bebidas energéticas en combinación con alcohol no produce sensación de intoxicación, es decir, de embriaguez, debido al estado de alerta que producen tales bebidas. También se ha encontrado que la combinación de bebidas alcohólicas con bebidas energéticas se ve reflejada en una pobre coordinación motora del cuerpo (alteraciones en el equilibrio y en el andar), así como retardo en el tiempo de reacción, por ejemplo, para evitar un choque, síntomas que si bien se observan también cuando se consume solo alcohol, son mayores cuando dicho consumo se da en combinación con bebidas energéticas. Además, es importante recordar que tanto la cafeína como el alcohol son diuréticos, lo que incrementa el riesgo de deshidratación y de sufrir efectos cardiovasculares adversos, razón por la cual no se recomienda combinar estas dos bebidas. Se cree la combinación de bebidas energéticas con bebidas alcohólicas puede provocar daño al hígado, sin embargo, no ha sido aún comprobado, aunque ciertamente existe la posibilidad, pues como lo señalamos anteriormente, cuando ambas bebidas se consumen juntas, la sensación de intoxicación por alcohol no se produce, por lo que se pueden consumir mayores cantidades de esta sustancia, y si ello ocurre por largos periodos, puede conducir a cirrosis o a otros daños hepáticos. Esto se debe a que las bebidas alcohólicas contienen etanol, sustancia que al ser procesada en el hígado produce los llamados “radicales libres”, dañinos para las células que se encuentran en ese órgano (López, 2015). La tabla 3 resume los efectos negativos que se presentan comúnmente en consumidores de bebidas energéticas.

*Tabla 3. Efectos negativos comunes presentados al ingerir bebidas energéticas  
Modificado de (Juárez, 2015)*

Efecto negativo	
<b>Cambios en el ritmo cardíaco</b>	Las altas dosis de cafeína contenidas en la bebida, provocan una sobredosis que puede derivarse en taquicardias en las que el corazón aumenta su ritmo cardíaco, lo que en algunos casos podría hasta causar algún colapso.

*Tabla 3. Efectos negativos comunes presentados al ingerir bebidas energéticas  
Modificado de (Juárez, 2015) (Continuación)*

<b>Aumento de adrenalina</b>	Cuando se consumen este tipo de bebidas la persona puede presentar cuadros de ansiedad y desesperación que podrían tardar hasta tres horas en desaparecer.
<b>Deshidratación</b>	Contrario a lo que algunos piensan, estas bebidas no son rehidratantes, quien las toma y además las combina con alcohol, podría presentar un cuadro severo de deshidratación que en casos muy extremos podría llevar hasta la muerte.
<b>Gastritis</b>	La persona podría sufrir ardor en el estómago, además de experimentar molestias al ingerir otros alimentos.
<b>Desmayos (reflejo vaso-vagal)</b>	La bebida energética aumenta la adrenalina, por lo que la respuesta natural del cuerpo es tratar de disminuir la frecuencia cardiaca, llega poca irrigación al cerebro, por lo tanto, al hacer un “choque” entre adrenalina y el intento por normalizarse, se provoca la pérdida de conciencia.
<b>Alteración de los nervios</b>	Las bebidas energéticas afectan principalmente al sistema nervioso central, puesto que al ser el encargado de enviar impulsos a músculos, cualquier afectación que se dé, puede repercutir en todo el cuerpo.
<b>Afecciones a los vasos sanguíneos</b>	Las bebidas energéticas en exceso, provocan vasoconstricción, una irregularidad en los vasos sanguíneos que induce a que se contraigan. Para las personas hipertensas representa un peligro, además, contienen Ginseng, lo que causa problemas en la presión arterial, generando una crisis que podría derivarse en embolias, derrames e infartos, entre otras complicaciones.
<b>Daño a los riñones</b>	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 severo daño renal, en el que nutrientes y electrolitos son desechados por el organismo, lo que provoca una desestabilización de la presión arterial.
<b>Inhibición de neurotransmisores</b>	La ingesta de la cafeína en grandes cantidades, así como también de taurina, provoca algunas afectaciones en el cerebro, lo que podría impedir la correcta comunicación entre las neuronas.

## 4. JUSTIFICACIÓN

La regulación de bebidas a las que se les adiciona cafeína ha sido todo un reto, particularmente porque la industria no está de acuerdo en que se les otorgue un trato diferente al que se le dispensa al café o al té, en los cuales la cafeína es un constituyente natural. Sin embargo, varios países han tomado medidas para regular el etiquetado, la distribución y la venta de bebidas energéticas que contienen cantidades significativas de cafeína. En México, desde 2012 se publicó la NOM-218-SSA1-2011 para regular este tipo de bebidas, sin embargo, las empresas que las elaboran no están de acuerdo en que se coloquen leyendas en sus envases tanto para advertir a los consumidores que son bebidas hechas con cafeína, como para prohibir su combinación con alcohol. Aunado a esta situación se encuentra el hecho de que el consumo indiscriminado de bebidas energéticas por la población en edad reproductiva ha ido significativamente en aumento (Profeco, 2011) y hasta la fecha no existen suficientes estudios formales que evalúen la teratogenicidad de estas bebidas y / o sus componentes. En el presente estudio se evaluó el efecto teratogénico de la bebida energética Red Bull en larvas de tercer estadio de *D. melanogaster* con la finalidad de aportar evidencias que en un futuro contribuyan a regular su consumo.

## **5. OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar el efecto teratogénico de la bebida energética Red Bull® en larvas de tercer estadio de *Drosophila melanogaster* a partir de la repetición de sistemas de diferentes concentraciones de dicha bebida, la observación y conteo de adultos.

## **6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar el porcentaje de viabilidad larva-adulto que presenta *D. melanogaster* en sistemas con diferentes concentraciones de Red Bull ®.
- Determinar el tipo y frecuencia de malformaciones que presenta *D. melanogaster* en sistemas con diferentes concentraciones de Red Bull ®.

## **7. METODOLOGÍA**

### **7.1 Material Biológico**

#### **7.1.1 La cepa**

Los ejemplares de *D. melanogaster* cepa silvestre fueron obtenidos del cepario certificado de la FES-Iztacala, UNAM y ambientados por varias generaciones en el laboratorio de Citogenética de la FES-Cuautitlán, UNAM. El cuidado, mantenimiento y conservación de la cepa se realizó empleando el protocolo de Navarrete, 2013.

### **7.2 Obtención de larvas de 3<sup>er</sup> estadio**

#### **7.2.1 Preparación de medio a base de levadura**

Véase Anexo 1

#### **7.2.2 Cruza**

1. Cruzar 5 machos con 5 hembras vírgenes cepa silvestre en un medio a base de levadura e incubar a 25°C +/- 2°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, sacrificar a los progenitores por sobredosis de éter etílico y continuar la incubación aproximadamente 72 horas.
2. Al terminar las 72 horas de incubación, observar directamente en el medio las larvas de 3er estadio o en su defecto, su trayectoria a lo largo del cultivo.
3. Agregar agua corriente al medio de cultivo y agitar con movimientos circulares hasta disolver la levadura y colectar el contenido en una coladera para recuperar las larvas. Bajo estas condiciones se obtienen aproximadamente 100 larvas/cultivo.

### 7.3 Teratogénesis en larvas de tercer estadio de *D. melanogaster*

1. Preparar medios a base de hojuela de papa con base en cada lote descrito en la tabla 4 y realizar 5 repeticiones por sistema.
2. Una vez eclosionados los adultos expuestos a cada lote de trabajo (Generación parental, P) seleccionar 5 machos y 5 hembras vírgenes sin malformaciones aparentes y cruzar en un medio a base de hojuela de papa y solución conservadora (Nipagin al 12 %, ácido propiónico: ácido ortofosfórico 10:1 y aforado con agua destilada), incubar a +/- 25°C durante 1 semana.
3. Transcurrido el tiempo de incubación, sacrificar a los progenitores e incubar nuevamente a las mismas condiciones hasta la eclosión de la generación Filial 1 (F1).

*Tabla 4. Diseño experimental*

Lote	# de larvas de 3er estadio por sistema	Volumen de agua inyectable estéril (ml)	Volumen de Red Bull® clásico desgasificado (ml)	Volumen final (ml)
Control (-)	20	20	---	20
75%	20	5	15	20
50%	20	10	10	20
25%	20	15	5	20
12.5%	20	17.5	2.5	20

### 7.4 Evaluación de la viabilidad de la generación P y F1

1. Una vez eclosionado los adultos, mantenerlos bajo anestesia con éter etílico y observarlos al microscopio estereoscópico.
2. Para cada generación, cuantificar el total de adultos emergidos/ lote/ sexo, reportando el promedio de las 5 repeticiones.

### **7.5 Evaluación del efecto teratogénico de Red Bull® a diferentes concentraciones sobre larvas de 3er estadio de D. melanogaster**

1. Evaluar al microscopio estereoscópico las malformaciones congénitas de cada uno de los individuos por cultivo/lote/generación.

### **7.6 Evaluación del efecto embriotóxico**

1. Preparar 25 ml de agarosa al 1%
2. Vaciar un volumen aproximado de 8 ml de agarosa en 3 frascos. Esperar a que solidifique.
3. Preparar un poco de medio a base de levadura y adicionar un poco en el centro de la agarosa solidificada
4. Colocar un cruce de moscas (3 hembras x 3 machos). Esperar a que “acondicionen”
5. Contar el número de huevos obtenidos cada 24 horas durante 4 días
6. Incubar los huevos a 25°C +/- 2°C durante 7 días y evaluar la viabilidad

## 8. RESULTADOS

A continuación, se presentan el promedio de moscas que eclosionó por cada lote (5 repeticiones), así como el promedio de hembras y machos obtenidos en **P** (Tabla 5) y **F1** (Tabla 6):

*Tabla 5. Porcentaje de viabilidad presentados en moscas de la generación P*

Lote	Promedio de moscas eclosionadas por lote	Promedio de Hembras	Promedio de Machos	% Viabilidad
Control negativo	<b>19.4</b>	<b>10.8</b>	<b>8.6</b>	<b>97</b>
Red Bull ® al 75%	<b>17.4</b>	<b>13</b>	<b>4.4</b>	<b>87</b>
Red Bull ® al 50%	<b>15.8</b>	<b>9.4</b>	<b>6.4</b>	<b>79</b>
Red Bull ® al 25%	<b>18.8</b>	<b>10.8</b>	<b>8</b>	<b>94</b>
Red Bull ® al 12.5%	<b>19</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>95</b>

*Tabla 6. Porcentaje de viabilidad presentados en moscas de la generación F1*

Sistema	Promedio de moscas eclosionadas por lote	Promedio de Hembras	Promedio de Machos	% Viabilidad
Control negativo	<b>249.2</b>	<b>124.4</b>	<b>124.8</b>	<b>100</b>
Red Bull ® al 75%	<b>242.8</b>	<b>124.8</b>	<b>118.4</b>	<b>97</b>
Red Bull ® al 50%	<b>95.2</b>	<b>45</b>	<b>50.2</b>	<b>38</b>
Red Bull ® al 25%	<b>236.2</b>	<b>120.4</b>	<b>115.8</b>	<b>95</b>
Red Bull ® al 12.5%	<b>156.8</b>	<b>68</b>	<b>76.8</b>	<b>63</b>

Se presenta el promedio de malformaciones observadas por cada lote (5 repeticiones) por sexo, el promedio por cada lote y el promedio total de **P** (Tabla 7) y **F1** (Tabla 8)

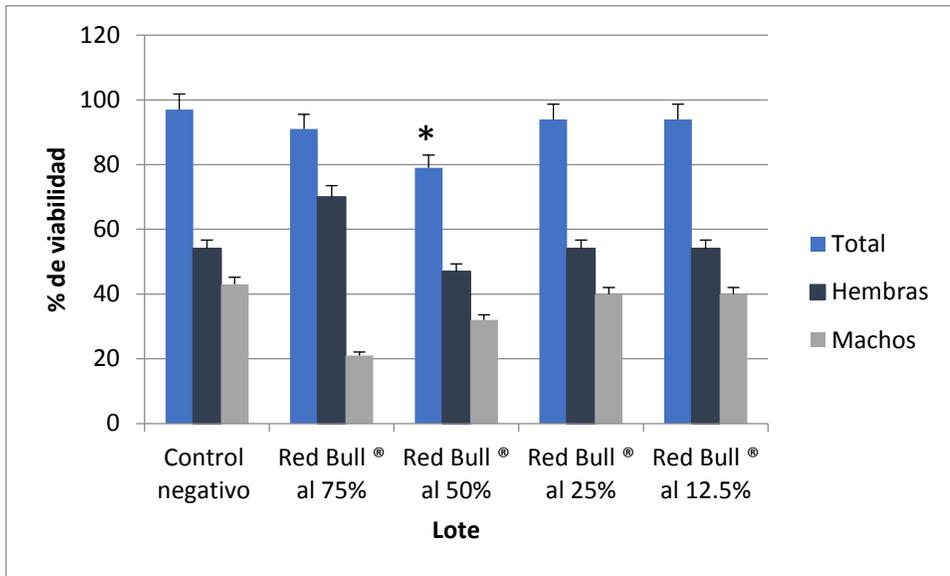
*Tabla 7. Malformaciones presentadas en moscas de la generación P.*

Concentración \ Malformación	Control negativo		12.50%		25%		50%		75%	
	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H
Moscas normales	124.8	122	68.8	52.8	114.2	111.2	49	37.6	117.2	105.4
Malformación de segmentos		2.4	7	11.4	1.2	5	1	6.6	1.2	3.8
Coloración más oscura	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4
Lunar	-	-	-	0.2	-	3.4	-	-	-	13.2
Malformación en ala	-	-	0.2	-	0.2	-	0.2	-	-	-
Tumor	-	-	0.4	2.4	0.4	0.2	-	0.8	-	-
Manchas en abdomen	-	-	0.4	0.2	-	0.2	-	-	-	-
Halterio fusionado	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-
Coloración gris en alas	-	-	-	0.8	-	-	-	-	-	-
<b>Total / Lote / Sexo</b>	124.8	124.4	76.8	67.8	116	120.2	50.2	45	118.4	122.8
<b>Total / Lote</b>	249.2		144.6		236.2		95.2		241.2	
<b>PROMEDIO</b>	49.84		28.92		47.24		19.04		48.24	

*Tabla 8. Malformaciones presentadas en moscas de la generación F1*

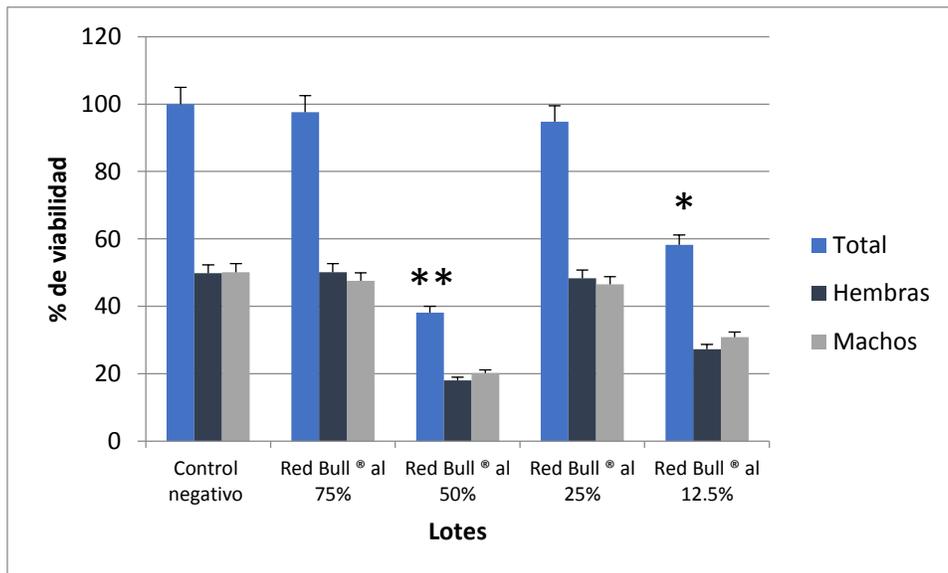
Malformación \ Concentración	Control negativo		12.50%		25%		50%		75%	
	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H
<b>Moscas normales</b>	624	610	344	264	571	556	245	188	586	527
<b>Malformación de segmentos</b>		12	33	57	6	25	5	33	6	19
<b>Coloración más oscura</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<b>Lunar</b>	-	-	-	1	-	17	-	-	-	66
<b>Malformación en ala</b>	-	-	1	-	1	-	1	-	-	-
<b>Tumor</b>	-	-	2	12	2	1	-	4	-	-
<b>Manchas en abdomen</b>	-	-	2	1	-	1	-	-	-	-
<b>Halterio fusionado</b>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
<b>Coloración gris en alas</b>	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-
<b>Probóscide pequeña</b>	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
<b>Malformación en abdomen</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Total /lote / sexo</b>	624	622	384	339	580	601	251	225	592	614
<b>Total / lote</b>	1246		723		1181		476		1206	
<b>PROMEDIO</b>	249.2		144.6		236.2		95.2		241.2	

Se muestra el total de moscas eclosionadas por cada sistema y el número total de hembras y machos obtenidos por cada lote en **P** (Gráfica 1) y **F1** (Gráfica 2)



**Gráfica 1.** Viabilidad larva-adulto de la generación P

\*Diferencias estadísticamente significativas con respecto al control negativo (ANOVA Tuckey-Kramer,  $P < 0.05$ )

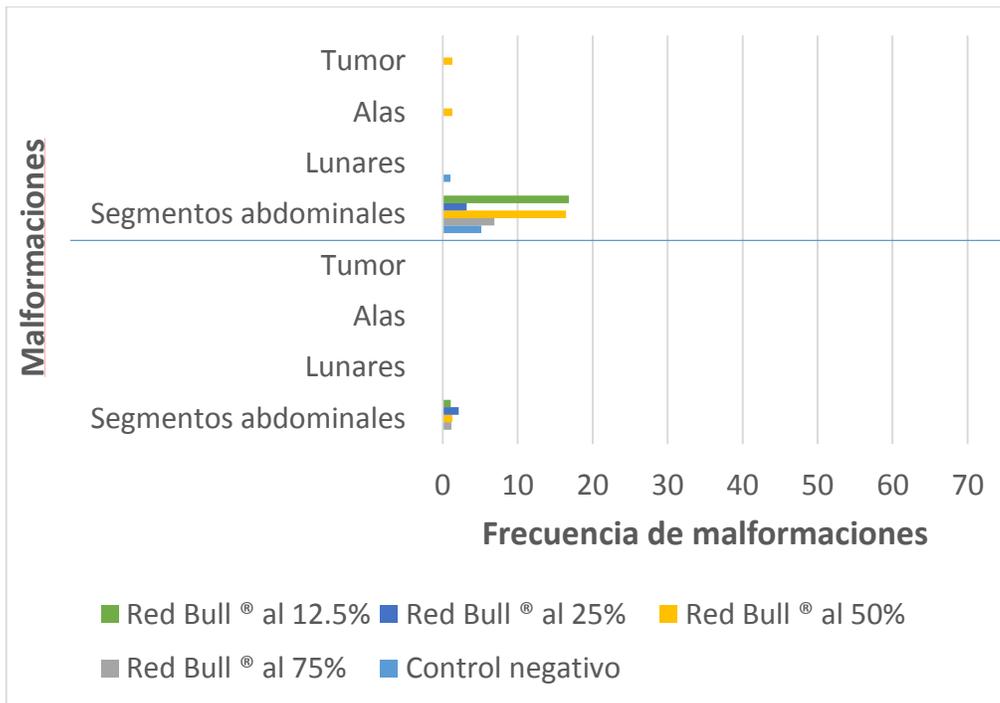


**Gráfica 2.** Viabilidad de individuos larva-adulto de la generación F1

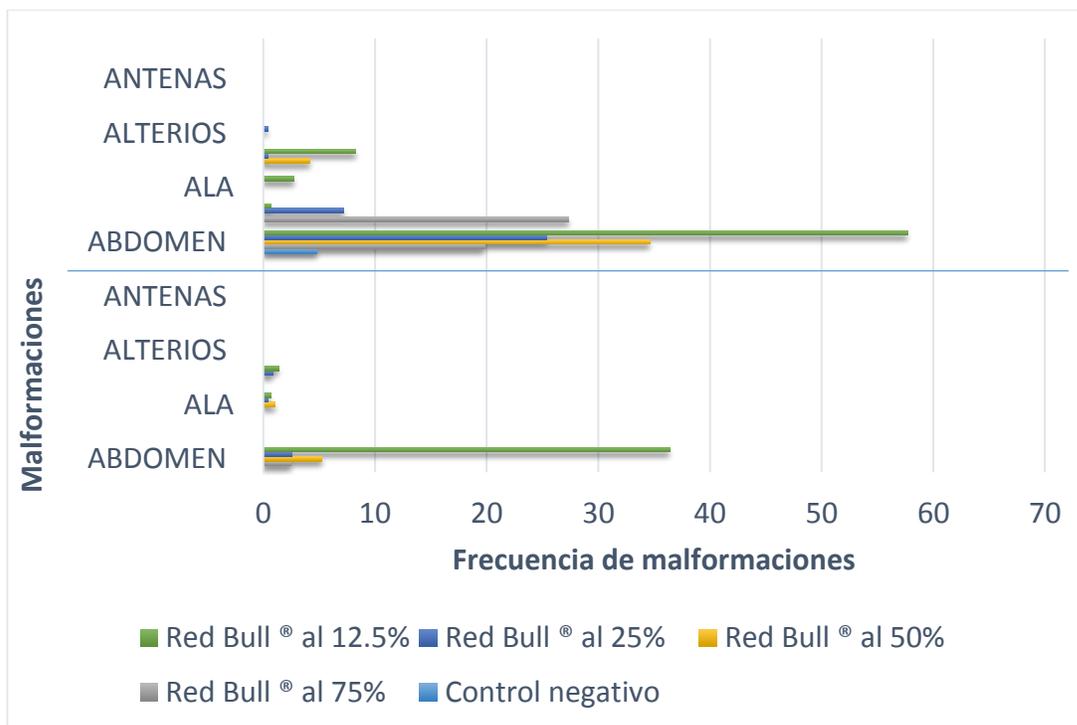
\*Diferencias estadísticamente significativas con respecto al control negativo (ANOVA, Tuckey-Kramer,  $p < 0.05$ )

\*\*Diferencias estadísticamente significativas (ANOVA, Tuckey-Kramer,  $p < 0.01$ )

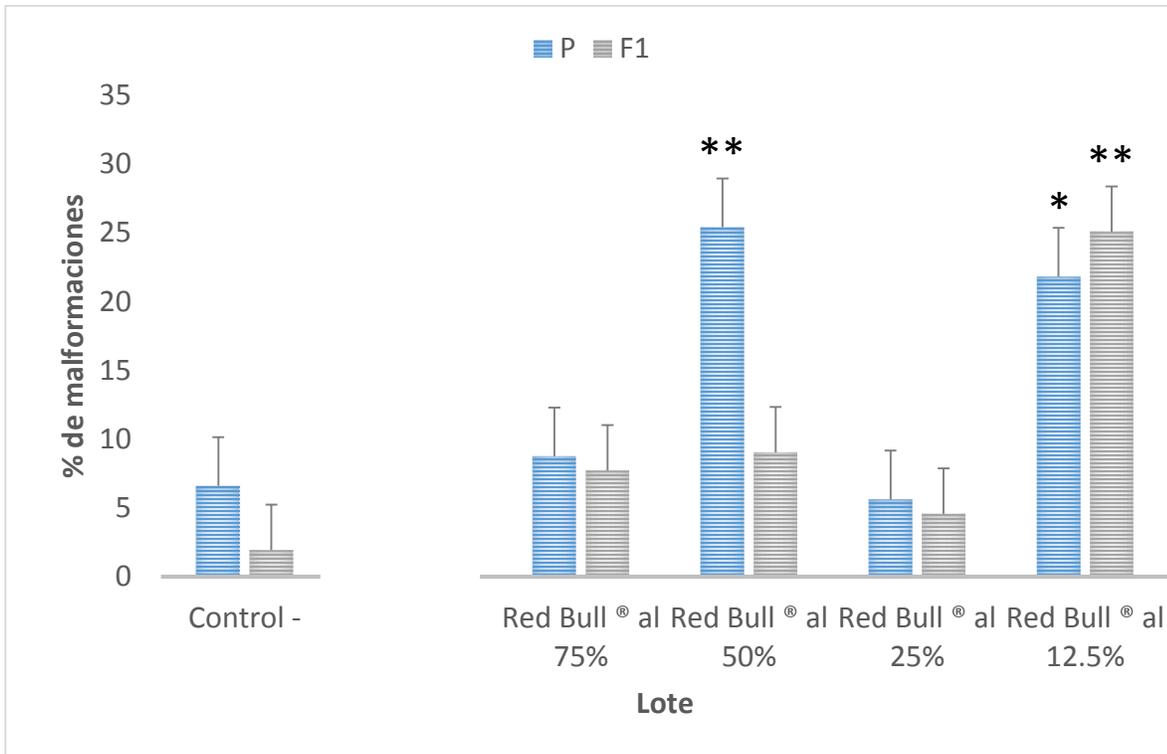
Se presentan las frecuencias de malformaciones / sexo presentadas en la Generación P (Gráfica 3) y F1 (Gráfica 4) en el Control Negativo y las diferentes concentraciones de Red Bull ®



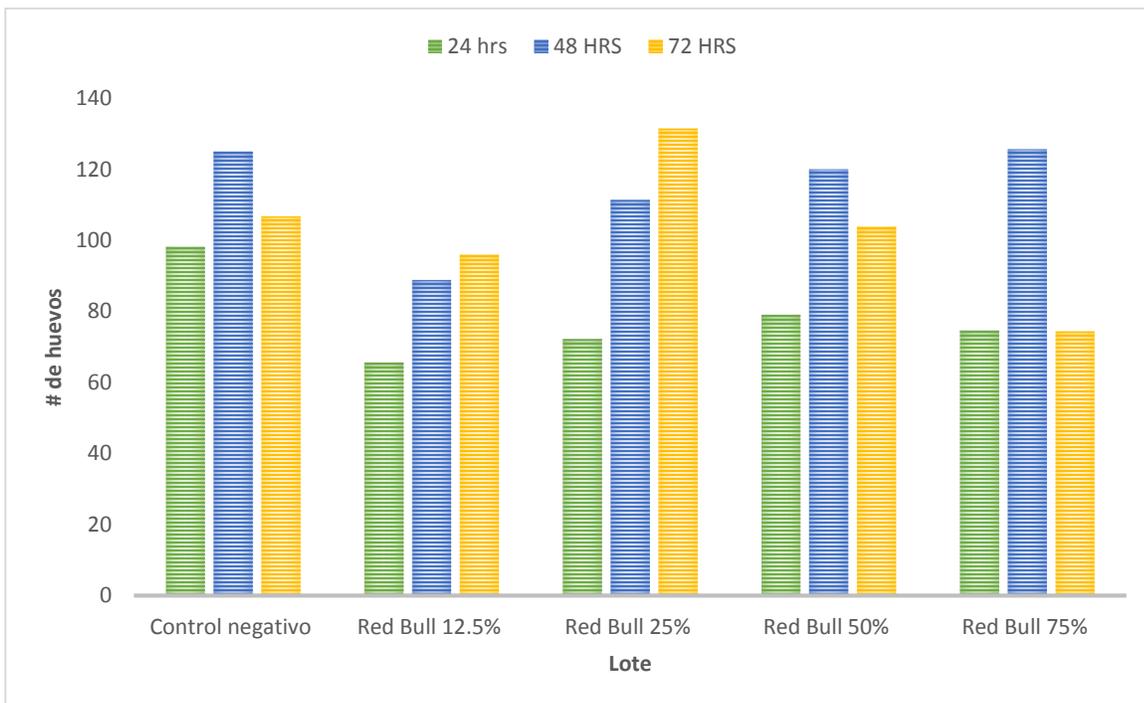
Gráfica 3. Frecuencias de malformaciones generación P



Gráfica 4. Frecuencias de malformaciones generación F1



**Gráfica 5.** Porcentaje de malformaciones totales observadas en individuos de la generación P y F1  
 \*Diferencias estadísticamente significativas con respecto al control negativo (ANOVA, Tuckey-Kramer,  $p < 0.05$ )  
 \*\*Diferencias estadísticamente significativas con respecto al control negativo (ANOVA, Tuckey-Kramer,  $p < 0.01$ )



**Gráfica 6.** Número de huevos ovopositados por día por las hembras expuestas a diferentes concentraciones de Red Bull ®

## 8.1 Malformaciones observadas

A continuación, se presentan algunas de las diversas malformaciones obtenidas:



**Figura 20.** Larva de 3er estadio de *D. melanogaster*  
Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015

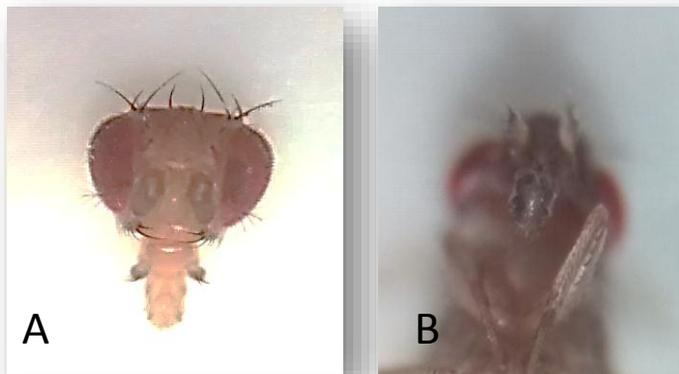


**Figura 21.** Inducción de daño a larvas de 3er estadio de *D. melanogaster* a diferentes concentraciones de Red Bull. A) 12.5%. B) 25%. C) 50%. D) 75%

Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015



**Figura 22.** Ejemplar de hembra de *D. melanogaster* la cual muestra cambio de coloración (más oscura) de la cutícula externa (Concentración 12.5% de Red Bull ®)  
Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015



**Figura 23.** A) Cabeza con coloración y probóscide normal. B) Cabeza con coloración más oscura y malformación en probóscide (Concentración 12.5% de Red Bull ®)  
Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015



**Figura 24.** Ejemplar de una hembra de *D. melanogaster* la cual muestra un abultamiento en una de las alas (Concentración 12.5% de Red Bull®)  
Fuente: Laboratorio de Citogenética, FES-Cuautitlán, UNAM, 2015.



**Figura 25.** Ejemplar de macho de *D. melanogaster* el cual muestra reducción en el tamaño de la cabeza. A) Cabeza normal.  
B) Microcefalia (Concentración 12.5% de Red Bull®)  
Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015



**Figura 26.** Ejemplar de macho de *D. melanogaster* el cual muestra defectos del cierre de la línea media del 4to segmento abdominal (Concentración 12.5% de Red Bull®)  
Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015



**Figura 27.** Ejemplar hembra de *D. melanogaster* la cual muestra una pseudotumoración entre el primer y tercer segmento abdominal (Concentración 12.5% de Red Bull ®)  
Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015



**Figura 28.** Ejemplar hembra de *D. melanogaster* la cual muestra ausencia de formación de segmentos abdominales (Concentración 50% de Red Bull ®)  
Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015.



**Figura 29.** Ejemplar de macho de *D. melanogaster* el cual muestra defectos del cierre de la línea media del 1er al 4to segmento (Concentración 75% de Red Bull ®)  
Fuente: Laboratorio de Citogenética Humana, FES-Cuautitlán. UNAM. 2015.

## 9. DISCUSIÓN

*Drosophila melanogaster*, es hoy por hoy, un organismo atractivo como modelo biológico de investigación debido a su tiempo de generación corto (10 días a 25°C), caracteres morfológicos fácilmente identificables, la existencia de una diversidad de mutantes y de cepas bien caracterizadas, la facilidad para criar un número grande de individuos con medios de cultivo económicos e instalaciones sencillas, la posibilidad de tratar adultos o larvas y la disponibilidad de diferentes vías de administración (ingestión, inhalación o inyección) son ventajas adicionales (Palermo y Mudry, 2014).

Quizás otro atributo que hace de *Drosophila* un modelo de investigación tan atractivo es la notable conservación de la función de los genes compartida con los homólogos de los mamíferos, la cual no solo comienza a nivel genético y proteico, sino que se extiende a procesos derivados y divergentes que comprenden la regulación del desarrollo, el ritmo circadiano, la neurodegeneración, las consecuencias genéticas dañinas de la radiación ionizante, la clonación de ADN y la respuesta fisiológica al estrés, incluidos los reactivos químicos lo cual, es crucial en el caso de la teratogenicidad. Además, hay una gran cantidad de herramientas científicas disponibles para los investigadores de *D. melanogaster* que no se pueden aplicar fácilmente a un sistema de mamíferos como la manipulación ética de estos genes para comprender el patrón de expresión del desarrollo, los fenotipos de pérdida de función y los fenotipos de sobreexpresión. Esto, a su vez, ha llevado al descubrimiento y la experimentación de homólogos de *D. melanogaster* para muchas enfermedades humanas, incluida la alfa-sinucleína involucrada en la enfermedad de Parkinson (Feany y Bender, 2000), el supresor de tumores p53 (Jin *et al.*, 2000) y un receptor de insulina homólogo (Fernández *et al.*, 1995).

A pesar de que actualmente existe una gran diversidad de cepas mutantes de *Drosophila* diseñadas para evaluar los efectos tóxicos de diversas sustancias, tales como la cepa Oregon-R (OR) utilizada en la evaluación del efecto teratogénico de fármacos (Sharma y Kumar, 1999), *flr*<sup>3</sup> cepa de elección para el ensayo de mutación y recombinación somática (SMART) (Jiménez, 2009) e incluso cepas modificadas genéticamente como el caso de hembras transgénicas que expresan el transgén L30Q DHFR las cuales proporcionan sujetos experimentales únicos para examinar no solo los efectos morfológicos de la teratogénesis sino también la recuperación de la homeostasis

(Affleck y Walker, 2008). En el presente proyecto se decidió trabajar con cepa silvestre por las razones que se exponen a continuación:

- ✓ En esta primera etapa se buscaba evaluar la bebida energética Red Bull® en una cepa no modificada para analizar su efecto en sujetos normales metabólicamente.
- ✓ La cepa silvestre se encuentra bien ambientada a las condiciones de nuestro laboratorio, en cuanto a cuidado, mantenimiento y proliferación. Además de que se conoce perfectamente su anatomía y el personal está capacitado para identificar malformaciones en cualquiera de sus estructuras.
- ✓ Además de que se cuenta con un manual que utiliza a la cepa silvestre como cepa principal aplicada a diversos protocolos incluyendo pruebas de teratogenicidad de diferentes sustancias.
- ✓ Una de las razones más importantes del porqué se utilizó esta cepa es que en una segunda etapa se pretende evaluar el efecto que tienen las bebidas energéticas sobre la conducta de excavación y pupación de larvas y dichas metodologías fueron estandarizadas en la cepa silvestre (López, 2016).
- ✓ En la literatura existen reportes que avalan esta cepa como modelo en bioensayos de toxicidad, tal es el caso del reportado por Sauzo *et al.*, 2012.

Actualmente, son pocos los estudios publicados en los que se reporten los efectos tóxicos de las bebidas energéticas en modelos biológicos, ejemplo de ellos es el artículo escrito por Flores *et al.*, 2003, en el que se evalúa una marca comercial de bebida energética sola y en combinación con vodka en ratones árabes por medio del ensayo de micronúcleos en donde se concluye que dicha bebida causa daño citotóxico y genotóxico, pero no teratogénico. Por otra parte, en monos se han reportado crías con bajo peso al nacer, un incremento en el número de abortos y mortinatos (SCF, 2003).

Se ha evidenciado que factores ambientales como la temperatura, la humedad relativa y el tipo de medio de cultivo, ejercen una influencia en la productividad y desarrollo de *D. melanogaster*. La influencia que ejerce el medio de cultivo se debe principalmente a sus características físico-químicas y microbiológicas, tales como el porcentaje de nutrientes, el pH y la interacción existente entre microorganismos como bacterias y levaduras. Otro factor de gran influencia en la productividad es el genotipo de los individuos. Se han reportado diferencias marcadas, en

términos tanto de productividad como de la viabilidad entre los diferentes mutantes utilizados de *D. melanogaster*. Esto se debe a que en muchos mutantes se ven afectadas características estructurales y funcionales como el comportamiento de cortejo, la capacidad de cópula, la ovoposición y la viabilidad tanto del espermatozoide como de los diferentes estadios de la metamorfosis, que influyen en la tasa de mortalidad, la viabilidad y/o el tiempo de desarrollo de la especie (Díaz *et al*, 2008).

Para determinar la viabilidad en *D. melanogaster* se comparó el promedio de adultos obtenidos en los diferentes sistemas preparados con la bebida energética y el control negativo, de esta manera se encontró que en la generación P sólo hubo diferencias estadísticamente significativas en la concentración de 50% ( $p < 0.05$ ) con respecto al control negativo. Mientras que en la generación F1 se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de 12.5% ( $p < 0.05$ ) y 50% ( $p < 0.01$ ) con respecto al control negativo.

En este estudio también se evaluó la presencia de malformaciones. Se observó que en la generación P, la mayor cantidad de ellas se presentó principalmente en hembras en relación 3:1. Entre las alteraciones más frecuentes se encontraron pseudotumores (Fig. 26), lunares, malformación en alas (Fig. 23) y segmentos abdominales (Fig. 25, 27 y 28), siendo esta última la más común tanto en machos como en hembras, afectando principalmente entre el segundo y cuarto segmento de ambos géneros, al igual que los tumores y lunares. Las diferencias fenotípicas entre las moscas normales y las tratadas con Red Bull®, indican que las larvas tratadas con dicha bebida sufrieron modificaciones a nivel de expresión de los genes que comprenden el complejo bithorax (Ubx, Abd-A y Abd-B), dado que la mayor frecuencia de malformaciones se observa a nivel abdominal. En el caso de las alas, sufrieron cambio de color a un tono grisáceo y también la presencia de una doble cubierta que parecía formar una especie de ‘bolsa de aire’. Cabe mencionar que la diferencia de sexos en esta primera generación se debe a que las larvas de tercer estadio fueron seleccionadas al azar por lo que no se tuvo un control de las proporciones de machos y hembras que se sometieron al estudio.

De igual manera en F1, se presentaron las mismas malformaciones que en la generación P, sin embargo, el número de éstas incrementa, de manera que se observa aparte de las anteriores, anomalías en ojos, antenas, probóscide (Fig.22) y halterios, además de un evidente cambio en el color normal de la mosca, tornándose más oscuro (Fig.21). Similar a lo ocurrido en la generación

parental, dichas malformaciones se presentan con mayor frecuencia en hembras que en machos, pero en relación 1:2. Cabe mencionar que esta generación no fue expuesta a la bebida energética, únicamente se cruzaron adultos de P que no presentaban anomalías aparentes para su obtención lo que nos hace pensar que la bebida energética está causando daño a nivel de células germinales. En esta generación las proporciones entre machos y hembras fueron más homogéneas debido a que se seleccionó el mismo número de machos y hembras a diferencia de la generación P.

Para determinar el porcentaje de malformaciones en *D. melanogaster* se comparó el promedio de adultos obtenidos en los diferentes sistemas preparados con la bebida energética y el control negativo, de esta manera se encontró que en la generación P se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de 12.5% ( $p < 0.05$ ) y 50% ( $p < 0.01$ ) con respecto al control negativo. Mientras que en la generación F1 sólo hubo diferencias estadísticamente significativas en la concentración de 12.5% ( $p < 0.01$ ) con respecto al control negativo.

En cuanto a la evaluación del efecto embriotóxico el cual se analizó con el conteo de huevos se encontró que en ninguno de los sistemas problema hubo diferencia estadísticamente significativa con respecto al control negativo, sin embargo, se observa una tendencia a disminuir en las concentraciones de 12.5 y 50%.

Integrando todos los resultados anteriores podemos decir que la disminución de la viabilidad larva-adulto en la generación P a la concentración de 50% se debe a que las malformaciones obtenidas en estas moscas son tan severas que la larva muere necrótica (Fig. 23) dentro de las primeras 72 horas posteriores a la exposición a la bebida energética. Mientras que en la generación F1 la disminución en la viabilidad se atribuye al daño embriotóxico inducido por esta bebida a las concentraciones de 12.5 y 50% datos que corresponden con el % de huevos ovopocitados a estas concentraciones en las que si bien no hay diferencias estadísticamente significativas sí se observa una tendencia a disminuir en dichos sistemas.

De los componentes de la bebida energética en estudio al que se podría asociar las malformaciones obtenidas sería a la cafeína. En el trabajo reportado por la SCF, 2003 se relacionó la ingesta de cafeína por mujeres embarazadas con daños al feto en su desarrollo embrionario, además de vasoconstricción uteroplacentaria, mayor frecuencia cardíaca fetal y arritmias lo que

conlleva a la falta de oxigenación del feto. También aumento en el riesgo de aborto espontáneo, bajo peso al nacer, mortinatalidad y síndrome de muerte súbita del recién nacido.

## **10.CONCLUSIONES**

Después de evaluar el porcentaje de viabilidad larva-adulto, así como el tipo y frecuencia de malformaciones que se presentaron en sistemas con distintas concentraciones de Red Bull®, se concluye que ésta bebida energética es teratogénica a las concentraciones de 12.5 y 50% tanto en la generación P como en F1 ya que se encontraron diferencias estadísticamente significativas en comparación con un control negativo.

## **11.PERSPECTIVAS A FUTURO**

Con los resultados obtenidos en este proyecto se espera dar paso, en un futuro, a evaluar el efecto teratogénico-ambiental en *D. melanogaster* cepa silvestre y en algunas cepas mutantes como Oregon-R (OR) y *flr*<sup>3</sup>.

Se espera probar los principales compuestos en la bebida energética Red Bull® de manera individual con el fin de encontrar alguna asociación que permita explicar las malformaciones obtenidas en el presente trabajo.

## **12.ANEXO 1**

### **PREPARACIÓN DE MEDIO A BASE DE LEVADURA**

1. Colocar en un recipiente limpio una barra de levadura de pan y con ayuda de una pala desmoronar hasta obtener pequeños trozos inferiores a 1 cm.
2. Agregar una cucharada sopera de azúcar morena sin refinar, 10 ml de agua destilada y mezclar hasta incorporar.
3. Añadir agua destilada poco a poco y sin dejar de mezclar hasta obtener una pasta apenas líquida (parecida a la cajeta).
4. Dejar reposar la mezcla por 10 minutos, tiempo en el cual se podrá observar la liberación de CO<sub>2</sub>, debido al metabolismo de las levaduras, lo que indica que se activaron correctamente.
5. Colocar la preparación en baño María a 37°C durante 5 minutos, cuidando que la mezcla no se derrame. Al terminar el tiempo batir suavemente hasta que deje de liberar CO<sub>2</sub>. Repetir 3 veces.
6. Al terminar, la consistencia del medio debe ser apenas líquida y al sacar la pala del medio, debe formar un “hilo” delgado sin romperse, de ser así, se procede a vaciar en frascos cultivo convencional a un cuarto de la capacidad aproximadamente.
7. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 24 horas, tiempo durante el cual el medio se secará completamente y podrá ser utilizado.

### **PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN CONSERVADORA**

#### **- SOLUCIÓN FUNGICIDA**

1. Lavar y secar el material de vidrio a utilizar
2. Encender balanza analítica y pesar 1.2gr de Nipagin
3. Trasladar el nipagin al matraz aforado de 10ml
4. Agregar 3ml de alcohol al 96% y disolver el nipagin completamente
5. Aforar a 10ml con alcohol del 96%
6. Verter la solución en un tubo falcon
7. Llenar una etiqueta de reactivos con los datos pertinentes
8. Guardar en refrigeración

## - **SOLUCIÓN BACTERICIDA**

Para Evitar la generación de residuos y generar menor contaminación la solución bactericida se realiza directamente sobre la solución final conservadora.

## - **SOLUCIÓN CONSERVADORA**

1. Lavar y secar material de vidrio necesario
2. Tomar el matraz aforado de 1L y añadir un poco de agua
3. Añadir 5ml de Nipagin al 12%
4. Encender campana de extracción
5. Tomar del frasco de Ácido propiónico 4.5ml y añadirlo al matraz aforado
6. Tomar del frasco de Ácido ortofosfórico 0.5ml y añadirlo al matraz aforado
7. Apagar campana de extracción y retirar las soluciones de la campana
8. Aforar con agua destilada a 1L
9. Con un embudo trasladar la solución conservadora a un frasco ambar
10. Rotular una etiqueta con los datos requeridos y guardar en refrigeración

## **PREPARACIÓN DE MEDIOS**

1. Pesar 5 gr de puré de papa en hojuelas
2. Verter la papa en el frasco para cultivo y distribuir uniformemente la papa
3. Hidratar la papa con 20 ml de sol. conservadora adicionandola de forma continua, en circulos concentricos sin dejar espacios secos y sin tocar la pared del frasco
4. Tapar el frasco y dejar que la papa absorba la solución conservadora
5. Verificar que el medio quedo bien colocandolo de cabeza, si no se cae se puede utilizar

### 13.REFERENCIAS

1. Affleck, J.G., Walker, V.K. (2008) A role for *Drosophila* in understanding drug-induced cytotoxicity and teratogenesis. Consultado el 21 de octubre de 2018. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2553645/>
2. Barahona, A. Piñero, D. (2002) *Génética: la continuidad de la vida*. Fondo de Cultura Económica, 3era edición. México.
3. Bellen, H.J., Ugur, B., Chen, K. (2016) *Drosophila* tools and assays for the study of human disease. Consultado el 21 de octubre de 2018. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26935102>
4. Bentebibel, A. (2009) Estudio de los mecanismos de inhibición de la actividad carnitina palmitoiltransferasa I. Universitat de Barcelona. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/2445/36293>
5. Bonilla, R (2008) *Manual de Prácticas de Laboratorio de Genética Aplicada*. FES-CUAUTITLÁN, UNAM. Pp. 94.
6. Boza, F., Herrera, K., Oquendo, M., Ortiz, A. (2014) *Teratógenos en el embarazo y enfermedades asociadas*. Universidad Autónoma de Centro América. Pp. 15-22.
7. Bridges, C.B. (1935) Salivary chromosome maps with a key to the cromosomes of *Drosophila melanogaster*. *J. Hered.*, 26: 60-60.
8. Brito, G., Soto, M., Pat, V., (2011) *Manual de Prácticas de Introducción a la genética*. Universidad Autónoma de Chapingo.
9. Cáceres M. (2013) “Consumo de bebidas energizantes y conocimiento de los factores de riesgo asociados a su consumo, que posee un segmento de la población estudiantil de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, que cursan el Décimo semestre, y la elaboración de un trifoliar informativo. UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA. Guatemala. Pp. 6-10.
10. Calle, S. (2011) *Determinación analítica de la cafeína en diferentes productos comerciales*. Universidad Politécnica de Catalunya. Barcelona, España
11. Castañeda, L., Heres, M.E., Dueñas, I.E., (2008) *Drosophila melanogaster: Un modelo experimental*. FES-IZTACALA, UNAM. México.

12. Chuaqui, B., González, S. (2002) Manual de Patología General. P. Universidad Católica de Chile. Chile.
13. Díaz, F., Pizarro, M., Ramírez, M., Molina, Y., Solarte, D., Bravo, D., Hurtado, A., Cárdenas, H. (2008). Evaluación de dos medios de cultivo y heredabilidad de productividad y tiempo de desarrollo para tres mutantes de *Drosophila melanogaster* (*Drosophilidae*). GETEG. Colombia. Pp. 162
14. Ehret, M.V., Pradier, C., Cerredo, K. (2016). Estudio de la mosca de la fruta. Tomado de: <http://www.buenosaires.gob.ar/revista-xq/caracteristicas-general-de-la-mosca-de-la-fruta>. 30 de Abril de 2017, 6:41pm.
15. Feany MB, Bender WW (2000) A *Drosophila* model of Parkinson's disease. *Nature* 404:394–398
16. Fernandez R, Tabarini D, Azpiazu N, Frasch M, Schlessinger J (1995) The *Drosophila* insulin receptor homolog: a gene essential for embryonic development encodes two receptor isoforms with different signaling potential. *EMBO J* 14:3373–3384
17. Food and Drugs Administration (2012) Guía de Clasificación Teratogénica FDA. Tomado de: <https://www.doctoraugustopereira.com/app/download/5787150225/fda.pdf> Consultado el 24 de mayo de 2017, 09:38 pm.
18. Gantiva, C. (2008) Efectos del consumo de bebidas energizantes en el aprendizaje encadenado en ratas. Universidad de San Buenaventura Bogotá. Colombia. Pp. 96-102.
19. Gumpel N., Chyb, S. (2013) Atlas of *Drosophila* morphology: Wild-type and Classical Mutants. Elsevier 1ª. Edición.
20. Hurlock, L (2011) Potential Health Problems with the Use of Energy Drinks. *West Indian Med J*. Pp. 60
21. Jiménez, A. (2009) Evaluación del aceite esencial y el extracto etanólico de *Piper elongatum* Vahl. Universidad Mayor de San Andrés. Bolivia.
22. Jin S, Martinek S, Joo WS, Wortman JR, Mirkovic N, Sali A, Yandell MD, Pavletich NP, Young MW, Levine AJ (2000) Identification and characterization of a p53 homologue in *Drosophila melanogaster*. *PNAS* 97:7301–7306

23. Juárez, L., García, Z., Ángeles, K. (2015) Bebidas energizantes: ¿Qué te tomas? Centro Educativo Cruz Azul. Hidalgo. Pp. 6-10
24. López, G. (2016) Evaluación de los fenotipos conductuales de excavación y pupación de larvas de tercer estadio de *Drosophila melanogaster* cepa silvestre. FES-Cuautitlán.
25. López, N. (2015) Bebidas energéticas y sus efectos en la salud. Viva Salud. Instituto Nacional de Salud Pública. México. Pp. 18-25.
26. Lupski JR, Roth JR, Weinstock GM. (1996) Chromosomal duplications in bacteria, fruit flies, and humans. *Am J Hum Genet.* 58:21–27.
27. Melgarejo, M. (2004) El verdadero poder de las bebidas energéticas *Revista Énfasis Alimentación* N° 6.
28. Morgan, F., Quevedo, E., Baez, J., López, G., Gutiérrez, G., (2015) Teratología y farmacoterapia durante el embarazo y lactancia. Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. Pp. 22-40.
29. Navarrete, A.F. (2013) Implementación y diseño de experimentos con *Drosophila melanogaster* en el área de genética, para el apoyo a la docencia en la licenciatura de Bioquímica diagnóstica. FES-Cuautitlán, UNAM. Cuautitlán Izcalli, México.
30. Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011, Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba. Recuperado de: <http://www.salud.gob.mx/cdi/nom/compi/NOM-218-SSA1-2011.pdf>
31. Palermo, A.M. Mudry, M.D. (2014) Etanol e isopropanol: genotoxicidad y teratogénesis evaluada aplicando el modelo de *Drosophila melanogaster*. CITEDEF, Buenos Aires Argentina. PP 122-135.
32. Pérez, A., Allende, M.A., Fernández, A., Palomo, P. (2002) Teratogénesis: Clasificaciones. *Farmacia Hospitalaria*. Vol.26, N° 23. Madrid, España. Pp171-177.
33. Petitpierre, E., (1997) *Drosophila* y otros insectos en la investigación genética. Lab. De Genética, Dept. de Biología Ambiental, UIB; Palma de Mallorca, Pág. 401-403

34. Petracchi, F. (2015) Actualización sobre agentes teratogénicos. Tomado de: <http://sadipt.org/docs/agenteTeratogenos.pdf> . Consultado el 08 de Mayo de 2017.
35. “Prácticas de Laboratorio de: Genética (Grado de Biotecnología, Departament de Genètica Facultat de Ciències Biològiques CURSO 2011-2012” tomada asimismo de: Pierce, “Genética: Un enfoque conceptual” 3ª edición.
36. Prasad, J., Kalyani, C., Prakash, C. (2014) Teratogenicity: a mechanism based short review on common teratogenic agents. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, Elsevier. Pp. 421-430.
37. Profeco (2015) Bebidas con cafeína, taurina y otros ingredientes. Revista del Consumidor. Tomado de [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/100355/RC460\\_Bebidas\\_con\\_Cafaina\\_Taurina.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/100355/RC460_Bebidas_con_Cafaina_Taurina.pdf). Consultado el 09 de marzo de 2018.
38. Ramos, P., Abundis, H., Gaytán, J., (1993) Manual de Laboratorio de Genética para *Drosophila melanogaster*. McGraw-Hill. México.
39. Rodríguez, M., Tamayo, M., Rivadeneira, F. (2010) Agentes teratogénicos y teratogenicidad. Universidad Javeriana, Pp. 8-10
40. Rubin, G. M., Yandell, M. D., Wortman, J. R., Gabor, G. L., Nelson, C. R., Hariharan, I. K., Fortini, M. E., Li, P. W., Apweiler, R., Fleischmann, W. et al. (2000). Comparative genomics of the eukaryotes. *Science* 287, 2204-2215.
41. SCF (2003). Opinion on caffeine, taurine and d-glucurono- $\gamma$ -lactone as constituents of so-called “energy” drinks, adopted on 21 January 1999. Minutes of the 115th Meeting of the Scientific Committee on Food held on 20-21st January 1999. European Commission DG Consumer Policy and Consumer Health Protection. Document XXIV/2146/99.
42. Serras, F. Coromina, M. Amorós, M (2001) Estudio de mutantes del cromosoma III de *Drosophila melanogaster*: el gen ash-2 como regulador de diferenciación celular, Universitat de Barcelona. España. Pp. 8-9
43. Sharma, A., Kumar, S. (1999) *Current Science* Vol. 76, Pp. 476-480
44. Suazo, G., González, F., Urbina, A., Pastene, E., Saez, K., Serri., H., Chávez, R. (2012) Actividad insecticida del aceite esencial de *Lepechinia chamaedryoides* (Balb.) Epling in *Drosophila melanogaster*. Chile. *Gayana Bot.* 69(2): 256-266

45. Universidad Católica de Chile (2004) Manual de Patología General. Tomado de:  
[http://publicacionesmedicina.uc.cl/PatologiaGeneral/Patol\\_120.html](http://publicacionesmedicina.uc.cl/PatologiaGeneral/Patol_120.html) Consultado el  
24 de mayo de 2017.
46. Wolpert, L., Jessel, T., Lawrence, P., Meyerowitz, E., Robertson, E., Smith, J., (2007)  
Principios del desarrollo. 3er Edición, Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Pag  
31-34.

