

Inhibición dependiente de la dosis del daño gástrico por hidrógeno en agua potable electrolizada alcalina

Jinling Xue¹, Guodong Shang¹, Yoshinori Tanaka³, Yasuhiro Saihara³, Lingyan Hou¹, Natalia Velásquez¹, Wenjun Liu^{1,2} y Yun Lu^{1,2*}

Abstracto

Antecedentes: se ha informado que el hidrógeno alivia el daño en muchos modelos de enfermedades y es un aditivo potencial en el agua potable para brindar efectos protectores a los pacientes, como lo revelaron varios estudios clínicos. Sin embargo, la ausencia de una relación dosis-respuesta en la aplicación de hidrógeno es desconcertante. Intentamos identificar la relación dosis-respuesta del hidrógeno en agua potable electrolizada alcalina a través del modelo de lesión gástrica inducida por aspirina.

Métodos: En este estudio, se obtuvo agua alcalina rica en hidrógeno al agregar H₂ a agua electrolizada a una atmósfera de presión. Después de 2 semanas de beber, detectamos el daño de la mucosa gástrica junto con MPO, MDA y 8-OHdG en un modelo de lesión gástrica inducida por aspirina en rata.

Resultados: Se observó una inhibición dependiente de la dosis de hidrógeno en la mucosa del estómago. Bajo pH 8,5, 0,07, 0,22 y 0,84 ppm, el hidrógeno mostró una alta correlación con los efectos inhibidores mostrados por el área de erosión, la actividad de MPO y el contenido de MDA en el estómago. La histología gástrica también demostró la inhibición del daño por agua alcalina rica en hidrógeno. Sin embargo, el nivel de 8-OHdG en suero no tuvo un efecto significativo dependiente de la dosis de hidrógeno. El pH 9,5 mostró una respuesta inhibitoria más alta pero no significativa en comparación con el pH 8,5.

Conclusiones: el hidrógeno es eficaz para aliviar el daño gástrico inducido por la aspirina-HCl y el efecto inhibitor es dosis-dependiente. La razón detrás de esto puede ser que el agua rica en hidrógeno interactuó directamente con el tejido objetivo, mientras que la concentración de hidrógeno en la sangre fue amortiguada por el glucógeno hepático, provocando un efecto dosis-respuesta suprimido. Beber agua rica en hidrógeno puede proteger a las personas sanas del daño gástrico causado por el estrés oxidativo.

Palabras clave: Agua alcalina electrolizada, Dosis-respuesta, Lesión gástrica, Hidrógeno, Estrés oxidativo

Antecedentes

El hidrógeno endógeno se produce por fermentación colónica en el tracto gastrointestinal de roedores [1], humanos [2] e incluso insectos [3,4]. El hidrógeno penetra rápidamente en los tejidos y vasos sanguíneos por libre difusión y luego es transportado a todos los órganos. La concentración promedio de H₂ en la capa mucosa del estómago del ratón es de 43 μM [5].

Mientras que en hígado, bazo e intestino delgado, las concentraciones son de 53, 48 y 168 μM respectivamente [6].

El papel fisiológico del H₂ aún no está claro. Ohsawa et al. [7] encontró que el hidrógeno tiene un antioxidante y

función antiapoptótica que protege el cerebro contra la lesión por isquemia-reperfusión y el accidente cerebrovascular al neutralizar selectivamente los radicales hidroxilo y el peroxinitrito. Por lo tanto, estos resultados sugieren que el H₂ se puede aplicar terapéuticamente como un gas médico. Además, la aplicación clínica de H₂ ha mostrado muchas ventajas adicionales. En primer lugar, el H₂ no reacciona con el radical anión superóxido y el peróxido de hidrógeno, que tienen funciones fisiológicas importantes [7]. En segundo lugar, se puede administrar fácilmente a través de gas, agua potable e infusión intravenosa; y sus características favorables de distribución le permiten llegar a muchos órganos a los que otros fármacos no pueden llegar, otorgándole acceso a la mitocondria, al núcleo ya través de la barrera hematoencefálica. Y finalmente, H₂ provoca pequeños efectos secundarios. Su aplicación en Hydrexio, una mezcla respirable exótica de 49 % de hidrógeno, 50 % de helio y 1 % de oxígeno, utilizada en el buceo profundo, demuestra su seguridad para el uso humano [8,9]. Así mismo, seis

* Correspondencia: luyun@tsinghua.edu.cn

¹ State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, PR

Porcelana
² State Environmental Protection Key Laboratory of Microorganism Application and Risk Control, Tsinghua University, Beijing 100084, PR China La lista completa de información del autor está disponible al final del artículo

ensayos clínicos, entre los cuales el tratamiento más largo fue 6 meses, tampoco mostró efectos adversos detectables de hidrógeno en agua potable, hemodiálisis o intravenosa infusión [10-16].

En los últimos cinco años, los evidentes efectos protectores de H₂ se han documentado para 63 modelos de enfermedades y enfermedades humanas [17], incluido infarto cerebral, daño hepático y miocárdico, enfermedad de Parkinson, enfermedad metabólica síndrome, inflamación y alergia, trasplante de órganos, etc. [18-20]. Sin embargo, los posibles efectos de hidrógeno en la lesión gástrica aún no se han estudiado, y además, la ausencia de un efecto dosis-respuesta en el uso de hidrógeno como molécula terapéutica en estudios previos es sorprendente por varias razones. Primero el cantidad de hidrógeno absorbida por el agua potable es mucho menos que inhalando 1-4% de hidrógeno gaseoso, sin embargo el agua rica en hidrógeno mostró efectos beneficiosos similares o incluso mejores que el hidrógeno gaseoso [10,21]. En segundo lugar, el cantidad de hidrógeno endógeno generado por intestino bacterias (alrededor de 1 litro/día) es mucho más que el cantidad de beber agua rica en hidrógeno (generalmente menos de 50 mililitros/día) [18,21]. Tercero, beber agua rica en hidrógeno en diferentes concentraciones, inyectarse diferentes cantidades de solución salina de hidrógeno, o la inhalación de diferentes cantidades de hidrógeno gaseoso no mostraron una diferencia perceptible en los efectos [22-24].

En este estudio, se generó agua alcalina rica en hidrógeno mediante electrólisis. Hidrógeno y nitrógeno mixto Se usó gas (2:8 y 7:3) para ajustar la concentración de hidrógeno en el agua para obtener tres concentraciones de hidrógeno diferentes (0,07 ppm, 0,22 ppm, 0,84 ppm). No lo hicimos realizar la neutralización como lo hicieron la mayoría de los estudios en el pasado [25-28], ya que tanto el pH alto como el hidrógeno pueden aliviar las lesiones de pirina en el estómago. agua alcalina electrolizada sí mismo puede inhibir la lesión gástrica inducida por aspirina [29], y además, la carga alcalina del agua puede impedir un aumento de la excreción urinaria de minerales como calcio y magnesio, causado por la acidez del cuerpo [30]. Se observaron efectos inhibitorios del hidrógeno dependientes de la dosis. en el estómago, pero no eran evidentes en el suero. Los resultados sugieren que existe un efecto dosis-respuesta cuando el hidrógeno interactúa directamente con el tejido, pero una dosis alta de Es posible que el hidrógeno no aumente los efectos beneficiosos en los órganos diana a través del transporte sanguíneo.

Métodos

Declaración de Ética

El mantenimiento de los animales y los procedimientos experimentales fueron llevado a cabo en estricto apego a las Normas Institucionales

Comité de Cuidado y Uso de Animales (IACUC) de Tsinghua

University, que es una rama de Beijing Animal Care y

Comité de Uso. Todos los experimentos fueron revisados y aprobados por IACUC (permiso número 12-LY-02), y se hicieron todos los esfuerzos para minimizar el sufrimiento.

reactivos

Todas las soluciones se prepararon antes de su uso. electrolizado el agua alcalina se obtuvo a partir de un agua de iones alcalinos

electrolizador (TK7505, Panasonic, Japón), un comercial

electrolizador de Japón. El kit ELISA 8-OHdG y HEL

fueron adquiridos del Instituto Japonés para el Control

del Envejecimiento (JaICA). Se obtuvo ácido tiobarbitúrico

de J&K Scientific Ltd; Hexadecilo trimetilamonio

El bromuro se adquirió de Beijing River Dawn Biotech nology Co.,Ltd;

y 3,3',5,5',-tetrametilbencidina fue

obtenido de Amresco, EE.UU.

Modelo de lesiones gástricas y animales

Ratas macho Sprague Dawley con un peso de 150-170 g fueron

comprado a Beijing Vital River Laboratories, y

alojado en el Centro de Análisis Biomédico, Tsinghua

Universidad. El experimento comenzó cuando las ratas alcanzaron

200-220 g de peso. El agua alcalina con hidrógeno fue

preparado todas las noches con agua del grifo de la instalación (pH 6.8,

conductividad 40 µs/cm) y envasadas en bolsas de aluminio. Dos

En este estudio se seleccionaron valores de pH de 8,5 y 9,5. pH 8,5

y 9,5 son los límites superiores del estándar de agua potable en

China y el estándar para electrolizadores en Japón (por favor

véase Japan Industrial Standard, JIS T 2004:2005.), respectivamente.

El agua alcalina con pH 8,5 y 9,5 contenía 0,07 ppm y 0,22 ppm de

hidrógeno respectivamente

durante la electrólisis (El electrolizador es Panasonic TK7505

de Japon). Además, se disolvió más hidrógeno en

agua con mezcla de gas hidrógeno y nitrógeno (2:8 y 7:3),

que se llenó en las bolsas de aluminio a una presión atmosférica, para

producir 0,22 ppm y 0,84 ppm

agua hidrogenada El uso de nitrógeno en las mezclas de gases fue

una consideración por la seguridad. Además, la atmósfera contiene un

78% de nitrógeno, lo que hace poco probable que sea un

gas funcional en nuestro estudio. La concentración de hidrógeno en

agua se midió con un medidor portátil de hidrógeno disuelto DH-35A

(DKK-TOA Corporation, Japón). El

concentración de hidrógeno se mantuvo durante 24 h sin

cambio detectable.

Cada animal se mantuvo en una jaula separada y tenía libre

acceso al agua por la noche de 6 pm a 9 am. El agua

la ingesta y el peso corporal se registraron diariamente para cada rata.

Todas las ratas se distribuyeron aleatoriamente en 7 grupos de 6 a

8 ratas cada una, y se les dio diferente agua de bebida (Tabla 1).

Grupo A: pH 9,5, 0,84 ppm H₂, B: pH 9,5, 0,22 ppm H₂,

C: pH 8,5, 0,84 ppm H₂, D: pH 8,5, 0,22 ppm H₂, E:

pH 8,5, 0,07 ppm H₂, F: pH 6,8, 0 ppm H₂ (grifo de la instalación

agua), G: pH 6,8, 0 ppm H₂ (agua del grifo de la instalación). El

La dosis final de hidrógeno de cada grupo se enumeró en la Tabla 1.

Después de dos semanas de tratamiento, los animales murieron de hambre.

durante 18 horas con agua rica en hidrógeno aún disponible.

El agua de bebida se retiró una hora antes de la

ratas que reciben dosis de 200 mg/kg de aspirina y 0,15 N

HCl (8 mL/kg) junto con carboximetilcelulosa al 1%

Tabla 1 Grupos de tratamiento y ganancia de peso corporal promedio, ingesta diaria de agua y presencia de lesión gástrica

Grupos	pH	H2		dosis de H2 (µg/día/kg)† media ± SE	Peso ganancia (g)‡ media ± SE	Consumo de agua (ml/día) media ± SE	Lesión
A	9.5	0.84		80,6 ± 1,9	85,5 ± 6,0	25,6 ± 0,8	Sí
B	9.5	0.22		21,1 ± 1,6	81,9 ± 6,4	26,6 ± 2,5	Sí
C	8.5	0.84		80,6 ± 2,4	87,3 ± 5,0	25,9 ± 1,2	Sí
D	8.5	0.22		20,1 ± 0,8	78,5 ± 5,6	25,2 ± 1,4	Sí
E	8.5	0.07		6,8 ± 0,4	92,5 ± 3,0	26,9 ± 1,8	Sí
F	6.8	0		0	89,9 ± 3,5	27,2 ± 1,1	Sí
G	6.8	0		0	81,5 ± 7,0	26,3 ± 0,8	No

Cada grupo estaba compuesto por 6 a 8 ratas. calculado por (concentración de hidrógeno x ingesta diaria promedio de agua)/promedio peso corporal. †La dosis de H2 para cada rata fue el primer día de tratamiento del peso corporal antes de la lesión gástrica. Hay ninguna diferencia significativa entre los diferentes grupos.

sodio por intubación. El grupo G estaba muerto de hambre, pero no tratados con aspirina-HCl como se indica en la Tabla 1. Después tres horas, los animales fueron anestesiados con uretano (1 mg/kg) y se extrajo sangre de la aorta abdominal, después de lo cual fueron sacrificados por desangrado.

Evaluación de las lesiones de la mucosa gástrica

Después de sacrificar a los animales, se extrajo cada estómago, se abrió y se lavó con PBS. La zona erosionada en la superficie del estómago posterior (puntaje gástrico) fue medido bajo un microscopio de disección por una persona sin experimentar el procedimiento de dosificación. para histológico evaluación, un trozo de pared del órgano en la región inferior de se cortó el estómago, se incrustó en parafina, se tiñó con ácido peryódico de Schiff (PAS), se contratiñó con hematoxilina y se examinado bajo el microscopio de luz. La mucosa gástrica estaba raspado del resto del estómago con un portaobjetos de vidrio, y almacenado a -80°C.

Actividad mieloperoxidasa (MPO)

Cada muestra gástrica fue molida con teflón Potter-Elvehjem homogeneizador en 500 µl de tampón de fosfato de potasio 10 mM (pH 7,8) que contiene KCl 30 mM, fluoruro de fenilmetanosulfonilo al 1 % y EDTA 5 mM, para obtener un homogeneizado. Luego se centrifugó el homogeneizado y se usó el sobrenadante para detectar la concentración de proteína. El sedimento se volvió a homogeneizar en 500 l de potasio 0,05 M tampón de fosfato (pH 5,4) que contenía bromuro de hexadecilo trimetilamonio al 0,5 % y luego se centrifugó. El Luego se mezclaron 100 µl de sobrenadante con el mismo volumen tampón de fosfato de potasio 0,05 M (pH 5,4) que contiene 3,3',5,5',-tetrametilbencidina 15 mM y 2% H2O2. La actividad de MPO fue detectada por el lector de microplacas en 630 nm cada 15 segundos durante 5 minutos, y fue expresado como unidades por mg de proteína. La unidad MPO se definió como un cambio de absorbancia (1,0/minuto) a 630 nm en

temperatura ambiente. La concentración de proteína total en el los homogeneizados de tejido se midieron mediante el método de tinción con azul brillante de Coomassie.

Concentración relativa de malondialdehído (MDA)

La MDA generada en la mucosa gástrica, como producto de peroxidación lipídica, fue detectada por ácido tiobarbitúrico reacción. La mucosa gástrica fue homogeneizada por teflón Homogeneizador Potter-Elvehjem y ultrasonificado en 500 µl de KCl 0,15 M a 0°C para obtener un homogeneizado. El homogeneizado se separó en dos tubos. Uno fue usado para medir concentración de proteína, mientras que los otros 150 µl se usaron para detectar MDA. La proteína se desnaturalizó añadiendo 150 µl de SDS, 150 µl de ácido acético y 150 µl recién preparado Solución de ácido tiobarbitúrico al 0,82%. La mezcla se colocó en un baño de agua hirviendo durante 45 min, luego enfriado y centrifugado. El sobrenadante se usó para determinar la relación Concentración de MDA por lector de microplacas a 532 nm.

Medición de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina sérica (8-OHdG)

La concentración de 8-OHdG es un biomarcador de daño en el ADN y fue detectado por un kit ELISA (Cat. IM-KOGHS 040914E) del Instituto Japonés para el Control de Envejecimiento. La prueba se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante.

Concentración de aducto de hexanoil-lisina (HEL)

HEL también es un biomarcador del estrés oxidativo. El HEL las concentraciones en suero se determinaron mediante ELISA (Cat. KHL-700/E) del Instituto Japonés para la Control del Envejecimiento. La prueba se realizó siguiendo el Instrucciones del fabricante.

análisis estadístico

Los resultados se presentaron como la media ± error estándar (SE), y los datos fueron comparados por Análisis de Varianza (ANOVA) prueba de una vía por PASW Statistics 18. Las diferencias se consideraron significativas cuando el valor P fue menos de 0,05 por la prueba de Tukey.

Resultados

Consumo de agua potable y daño gástrico

Como era de esperar, el volumen promedio de consumo de agua y la ganancia de peso promedio por rata fue similar en grupos de tratamiento, como se muestra en la Tabla 1. Estos resultados implica que tanto el pH (8,5 y 9,5) como la concentración de hidrógeno en el agua potable (0,84 ppm, 0,22 ppm y 0.07 ppm) no afectó el deseo de los animales de consumir agua, y por lo tanto las ratas crecieron al mismo ritmo. Por lo tanto, la lesión gástrica no debería haberse visto afectada por diferencias potenciales en el comportamiento de consumo de alcohol.

Los resultados anatómicos mostraron que los grupos con pH alto 9.5, alta concentración de hidrógeno 0,84 ppm, o ambos (grupos A,

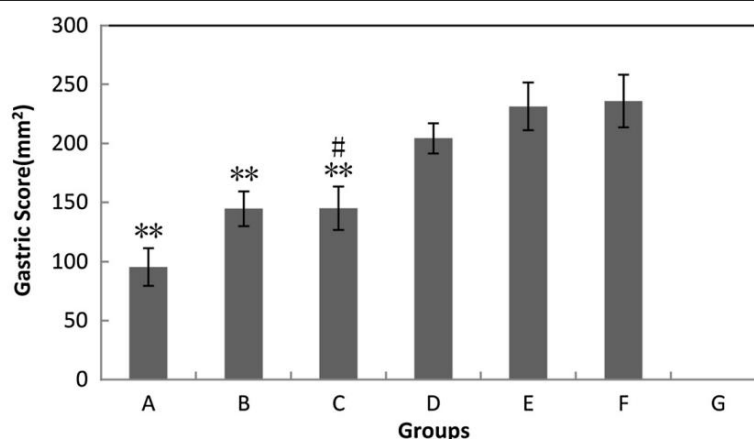


Figura 1 Medición de la puntuación gástrica (el área de erosiones gástricas) de 7 grupos. Los valores son la media \pm SE para 6 a 8 animales. **: $p < 0,01$, en comparación con el grupo F (control de agua neutra). #: $p < 0,05$, en comparación con el grupo E (grupo de bajo hidrógeno y bajo pH).

B y C), tuvo una inhibición significativa del daño gástrico en comparación con el agua del grifo del establecimiento de agua potable del grupo (grupo F) (Figura 1). Y al mismo pH, una dosis significativa de hidrógeno inhibición dependiente se observó dentro de los grupos C, D y E. Si los efectos inhibitorios y las concentraciones de hidrógeno fueron en comparación, se encontró una alta correlación positiva (Tabla 2). En la misma concentración de hidrógeno, también proporcionó un pH alto más inhibición (por ejemplo, A y C, o B y D), aunque los efectos no fueron estadísticamente significativos.

Los efectos inhibidores también se evidenciaron a través de la tinción histológica. Diferentes regiones del estómago tenían diferentes niveles de daño, que no eran consistentes dentro un grupo de dosis. Encontramos que la región inferior de la el estómago por lo general fue dañado uniformemente por la aspirina-HCl, y no se había observado ninguna arboleda de erosión sangrante en ese región. Por lo tanto, los tejidos histológicos de esa parte fueron elegidos para la comparación como se muestra en la Figura 2a. Como Como era de esperar, no se observó una fuerte erosión en todas las muestras. (Figura 2b). Las muestras del grupo G tenían mucosa intacta capa. El grupo F mostró que la superficie de la mucosa tenía desechos celulares desprendidos, así como producción defectuosa de moco en muchas regiones, que se señalaron en la Figura 2b. Las muestras de los grupos A y C tenían

capa de moco relativamente intacta, y la mayoría de las células de secreción de moco todavía eran funcionales en comparación con el grupo F, que ilustró los efectos inhibitorios del agua electrolizada rica en hidrógeno. Los grupos B, D y E también fueron teñidos y examinados bajo el microscopio, y tenían niveles medios de lesión (Archivo adicional 1: Figura S2). Pero el fenotipo no se puede cuantificar.

El agua electrolizada rica en hidrógeno alivió la inflamación mediada por neutrófilos y el estrés oxidativo en el estómago mucosa

La actividad de mieloperoxidasa (MPO) de la mucosa fue detectado por la reacción del ácido tiobarbitúrico y normalizado con la concentración de proteína para cada muestra. Las actividades fueron inhibidas por agua electrolizada de pH 9.5 y 8.5 de manera dependiente de la dosis de hidrógeno en comparación con grupo F (Figura 3). Los niveles de inhibición estaban bien correlacionados con la dosis de hidrógeno (Tabla 2).

El malondialdehído (MDA) se genera a partir de reactivos especies de oxígeno (ROS), y como tal, se ensaya in-vivo como biomarcador de estrés oxidativo. La MDA mucosa contenido en grupos tratados con agua electrolizada rica en hidrógeno mostró una reducción significativa en comparación con el grupo bebiendo agua inalterada (Figura 4). Y la inhibición el patrón es similar a los resultados de la puntuación gástrica y la MPO actividad.

El agua electrolizada rica en hidrógeno redujo el nivel de 8-OHdG en suero

La 8-OHdG es una de las formas predominantes de daño en el ADN inducido por radicales libres en núcleos y mitocondrias y, por lo tanto, ha sido ampliamente utilizada como biomarcador. para el estrés oxidativo y la carcinogénesis. Los niveles séricos de 8-OHdG se redujeron significativamente en alto contenido de hidrógeno grupos (concentración de hidrógeno mayor o igual a 0,22 ppm) en comparación con el grupo de control de agua del grifo F

Tabla 2 Correlación entre efectos de inhibición y concentraciones de hidrógeno en agua electrolizada pH 8.5

Grupo	Erosión†	8-OHdG†	MPO†	MDA†
C: H2 (6,8 µg/d/kg)	2,1%	1,6%	32,6%	-2,3%
D: H2 (20,1 µg/día/kg)	13,6%	36,8%	36,8%	41,9%
E: H2 (80,6 µg/d/kg)	38,6%	77,3%	61,9%	41,4%
Coefficiente de Pearson	0.990	0.952	0.999	0.633

† El efecto protector de la mucosa en cada concentración de hidrógeno se calculó mediante (nivel de daño en el grupo F - nivel de daño en el grupo C o D o E)/(nivel de daño en el grupo F - nivel de daño en el grupo G).

‡ En suero, dado que el daño gástrico no afectó el nivel sérico de 8-OHdG, el efecto protector fue calculado por (nivel de daño en el grupo F - nivel de daño en el grupo C o D o E)/nivel de daño en el grupo F.

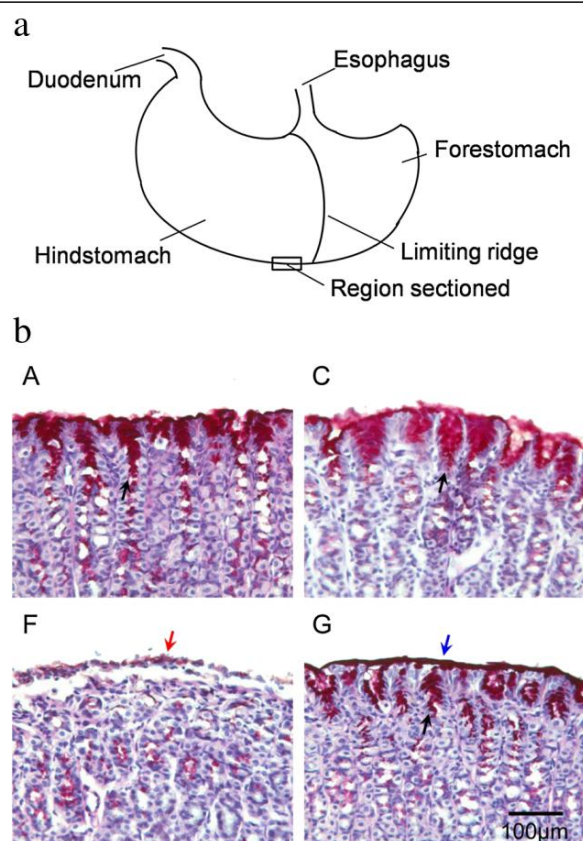


Figura 2 La posición de la muestra histológica (a) y la tinción PAS del estómago glandular de los grupos A, C, F y G (b). La flecha azul indica la capa de moco (roja) en la superficie de la pared interna, y la flecha roja señala las células moribundas y desprendidas. Las flechas negras muestran las células productoras de moco (rojas). Aumento: 100. Todas las imágenes muestran el fenotipo representativo de sus correspondientes muestras.

(Figura 5). Sin embargo, a diferencia de los otros criterios de valoración de las pruebas, los niveles de reducción y las dosis de hidrógeno no se correlacionaron en los grupos de pH 8,5, lo que sugiere que no se presentó un efecto dosis-respuesta para la 8-OHdG sérica (Tabla 2). El otro hallazgo diferente en la prueba de 8-OHdG fue que el grupo G tenía un nivel similar al del grupo F, lo que podría indicar que ambos grupos tenían un nivel de fondo de 8-OHdG. Otro marcador de estrés oxidativo, HEL, que detecta la peroxidación de lípidos, también se analizó en suero, pero los resultados no mostraron diferencias significativas entre todos los grupos (Archivo adicional 1: Figura S3).

Discusión

Como se mencionó anteriormente, un tema desconcertante en la aplicación de hidrógeno es la falta de efecto dosis-respuesta. Este estudio proporcionó alguna evidencia de que los efectos inhibitorios dependientes de la dosis de hidrógeno pueden observarse en el modelo de lesión estomacal inducida por aspirina mediante agua alcalina electrolizada y, por lo tanto, la ausencia de una relación establecida entre la dosis y los niveles de efecto puede ser una consecuencia del método de administración, el diseño experimental y el órgano objetivo.

En nuestro estudio, dimos tres concentraciones diferentes de hidrógeno en agua alcalina y observamos efectos obvios dependientes de la dosis en la mucosa del estómago, mientras que la mayoría de los demás informes solo compararon los efectos con o sin hidrógeno [31-37]. Todos ellos aplicaron alta concentración de hidrógeno de 0,8 ppm a 1,5 ppm, y todos ellos observaron efectos protectores frente a diferentes enfermedades o tratamientos médicos. Aunque no dieron la cantidad exacta de bebida de los animales, podemos estimar la dosis de hidrógeno por su concentración ya que los animales siempre tuvieron acceso libre al agua y el hidrógeno no cambió su comportamiento de bebida. Solo un estudio aplicó dos concentraciones de hidrógeno diferentes (0,08 y 1,5 ppm) en el tratamiento del modelo de ratón de la enfermedad de Parkinson. Sin embargo, sus resultados sugirieron que ambos

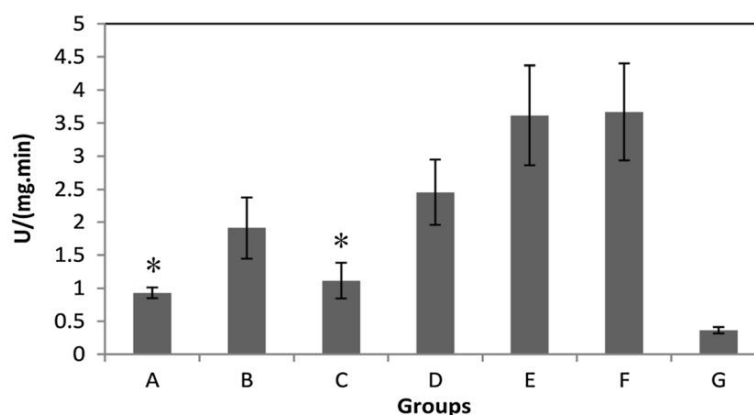


Figura 3 El efecto del hidrógeno sobre la actividad de la MPO en la mucosa gástrica después de lesionarse con ácido acetilsalicílico-HCl. Los valores son la media \pm SE para 6 a 8 animales. *: $p < 0,05$, en comparación con los grupos E (grupo de bajo hidrógeno y bajo pH) o F (control de agua neutra).

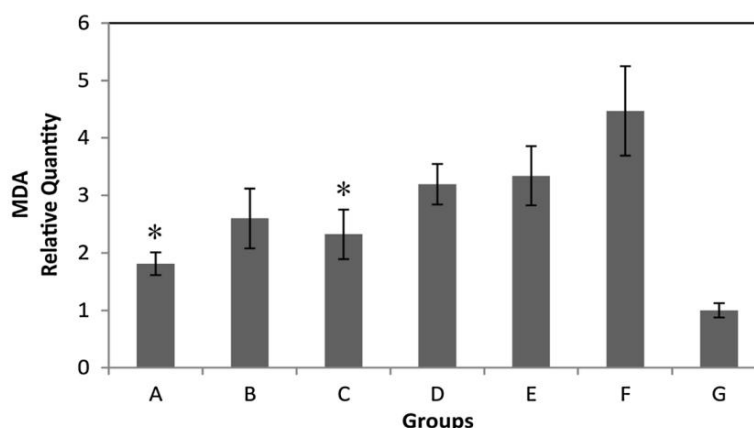


Figura 4 Niveles de MDA en mucosa gástrica de 7 grupos. La cantidad de MDA se normalizó con el nivel de MDA del grupo G (sin lesión control). Los valores son la media \pm SE para 6 a 8 animales. *: $p < 0,05$, en comparación con el grupo F (control de agua neutra).

dosificaciones tenían una función similar en el alivio del progreso de la neurodegeneración [22]. Otra diferencia principal entre nuestro estudio y los anteriores es que el hidrógeno se administrado a través del agua potable directamente al estómago, en lugar de ser transportado por la sangre a los órganos diana [17,18]. El agua puede ser absorbida en el estómago, y creemos que las concentraciones de hidrógeno en las células mucosas del estómago varían dependiendo del hidrógeno concentración en el agua. Sin embargo, para otros órganos esto puede no ser el caso, ya que el hidrógeno entra en la sangre primero, y luego es transportado a todos los órganos a lo largo del cuerpo. La farmacocinética del hidrógeno no se comprende por completo; sin embargo, un estudio reciente mostró que el glucógeno hepático puede acumular hidrógeno del agua potable [38]. Este estudio no solo reveló una de las razones por las que el consumo de incluso una pequeña cantidad de hidrógeno en un corto el lapso de tiempo mejora de manera eficiente varios modelos de enfermedades,

pero también sugirió que la concentración de hidrógeno puede amortiguarse en la sangre. Consideramos este efecto tampón del glucógeno como una de las razones de la ausencia de dosificación. fenómenos de respuesta en muchos otros estudios. En este estudio, los niveles de 8-OHdG en suero cambiaron sin un efecto dependiente de la dosis, lo que apoya esta hipótesis.

Aunque los grupos con alta concentración de hidrógeno mostró un nivel sérico de 8-OHdG significativamente más bajo en comparación con el agua del grifo del establecimiento de agua potable del grupo después lesión gástrica, fue sorprendente que el grupo G que tenía no ha sido lesionado con aspirina-HCl, tenía casi el mismo nivel de 8-OHdG como el grupo lesionado F. Esto podría significa que se produjo poco daño en el ADN en el estómago, o que la mucosa estomacal dañada no suelte 8-OHdG en la sangre durante las 3 horas posteriores a la lesión. El hidrógeno puede haber reducido el nivel de fondo de 8-OHdG en suero. Creemos que esto podría ser lo mismo.

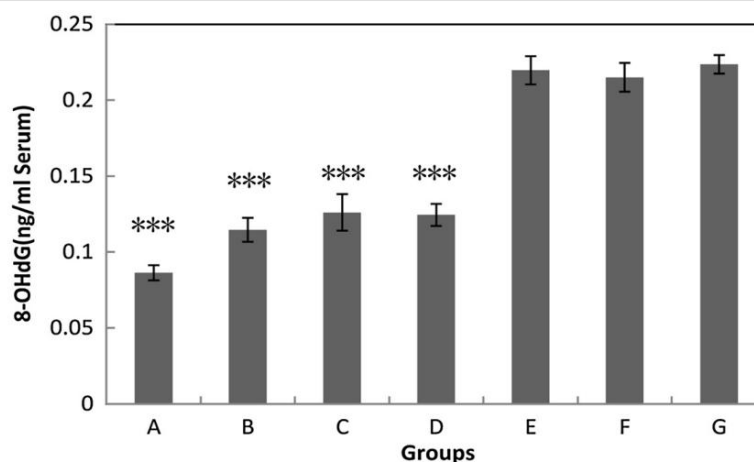


Figura 5 El nivel de 8-OHdG en suero en diferentes grupos. Los valores son la media \pm SE para 6 a 8 animales. ***: $p < 0,001$, en comparación con el grupo E (grupo de bajo hidrógeno y bajo pH), F (control de agua neutra) o G (control sin lesiones).

motivo del nivel de HEL sin cambios en el suero. oxidativo el daño en el estómago no afectó mucho a la sangre mucho, y el nivel de fondo de HEL es demasiado bajo para ser detectado por nuestro equipo.

Aunque se probaron muchos criterios de valoración en nuestra lesión modelo, puntuación gástrica, actividad MPO y cantidad de MDA son los mejores. La erosión gástrica es obvia bajo el microscopio de disección 3 horas después del tratamiento con aspirina-HCl. y el área de erosión se puede calcular usando una microrregla. Sin embargo, la severidad de la erosión no había sido considerada como lo hicieron la mayoría de los estudios previos. Algunas áreas de erosión eran manchas blancas irregulares, mientras que se podía ver el sangrado sobre otras regiones. No existe una regla para establecer los pesos. para diferentes grados de erosión. Creemos que podría ser un posible mejoría, que se puede hacer para esta lesión modelo en el futuro.

La MPO se expresa más abundantemente en los neutrófilos granulocitos. Evidencias sustanciales han sugerido que La inflamación mediada por neutrófilos está involucrada en el desarrollo de lesión gástrica inducida por aspirina [39-42]. Naito et al. [29] encontraron que la actividad de MPO aumentó en la mucosa gástrica después de 1 h de tratamiento con aspirina y persistió a las 3 h, y pudo reducirse con agua electrolizada a pH 10. La inflamación suele ser inducida por la células muertas en el tejido. Es difícil de detectar directamente la cantidad de células moribundas con mucosa, ya que algunas de ya están hechos pedazos. Así, examinando la células inflamatorias vivas es una sabia elección.

El estrés oxidativo es uno de los principales efectos causados por tratamiento con aspirina en el estómago. Y el hidrógeno tiene se ha informado que alivia el estrés oxidativo en muchos tejidos [17,18]. La MDA es uno de los biomarcadores más conocidos para estrés oxidativo. Proviene de la degradación de lípidos poliinsaturados por especies reactivas de oxígeno. Es uno de las muchas especies electrófilas reactivas que pueden formar aductos de proteínas covalentes denominados productos finales de lipoxidación avanzada (ALE). Antes de ver los resultados, teníamos miedo de que la MDA fuera demasiado reactiva para ser detectada en las muestras que habían sido almacenadas en el frigorífico durante varias semanas. Afortunadamente, los resultados mostraron una consistente reducción de MDA con dosis de hidrógeno, lo que demuestra que es un criterio de valoración fiable y estable en aspirina-HCl modelo de lesión

Se informó que la expresión de TNF- α era significativamente mejorado en el estómago y el suero lesionados por aspirina-HCl [29]. Y beber agua alcalina electrolizada podría disminuir el TNF- α tanto a nivel de proteína como de ARNm. Nosotros también probó el nivel de ARNm de TNF- α en el estómago y el

El ARNm de TNF- α aumentó en el estómago lesionado. Sin embargo, no encontramos cambios significativos entre los diferentes grupos tratados (Archivo adicional 1: Figura S4). Él podría deberse al punto de tiempo de recolección del tejido muestra. TNF- α es un respondedor temprano a la lesión gástrica y puede inducir la apoptosis de las células epiteliales gástricas como

así como células endoteliales [43-45]. La inhibición significativa de la expresión de ARNm de TNF- α por agua electrolizada el tratamiento se puede observar 1 hora después del tratamiento con aspirina [29], pero no a las 3 horas como se comunicó con el autor de este trabajo anterior. 1 hora después del tratamiento con aspirina HCl, la erosión no se puede observar fácilmente, lo que significa que la capa mucosa todavía está relativamente intacta. En ese momento, cualquier parte del estómago puede tener similares Nivel de ARNm de TNF- α . Sin embargo, cuando algunas erosiones formado a las 3 horas, diferentes piezas de la pared del estómago puede tener diferentes niveles de ARNm de TNF- α , ya que la erosión las piezas están relativamente más dañadas. Consideramos que es mejor tomar todo el estómago para TNF- α Cuantificación de ARNm que no sea un trozo de estómago pared, pero necesitará el doble de animales.

Otro punto en cuestión es el mecanismo de Efectos inhibidores de daños inducidos por agua alcalina electrolizada rica en hidrógeno. Los primeros trabajos ya se demostraron que la inhibición del daño gástrico es indirectamente inducida por el tratamiento continuo de agua alcalina electrolizada, pero no por la interacción directa de la alcalina electrolizada agua y aspirina [29]. Además, los efectos inhibidores de agua alcalina electrolizada no fueron causadas por la reducción la acidez gástrica, que podría afectar la absorción de as pirin [29]. El hidrógeno en agua alcalina electrolizada fue sugerido como un activo molecular. Ohsawa et al. encontró la reacción directa entre el hidrógeno y el radical hidroxilo y peroxinitrito [7]. Sin embargo, este mecanismo no encajan en nuestras observaciones porque el agua potable se extrajo una hora antes de que se produjera la lesión gástrica. Según dos informes anteriores, el hidrógeno podría haber ha sido exhalado dentro de los 10 minutos después de beber [17] y la concentración de hidrógeno en el hígado y el riñón debe haber bajado al nivel de fondo dentro de los 40 minutos posteriores una dosis de inyección [46]. Por lo tanto, es poco probable que el efectos inhibitorios resultaron de la reacción reductora por hidrógeno molecular. Alternativamente, un mecanismo más favorecido implicaría que el hidrógeno actuara como una molécula de señalización que altera la expresión génica en la célula, por lo tanto mejorando el estado anti-daño de la célula. Las alteraciones de la expresión de muchos genes y proteínas provocadas por el hidrógeno, como citocinas proinflamatorias, factores nucleares y caspasas, se han informado en otros modelos de enfermedades [17]. Sin embargo, es necesario un mayor estudio del perfil de regulación génica. para responder a la pregunta en el modelo de lesión estomacal.

Conclusiones

En general, este estudio proporcionó evidencias de que el hidrógeno puede inhibir la lesión estomacal inducida por aspirina-HCl de una manera dependiente de la dosis. La falta de efecto dosis-respuesta observada en otros estudios podría ser el resultado de un análisis de sangre. efecto amortiguador del glucógeno. Beber agua rica en hidrógeno puede proteger al individuo sano del daño gástrico causada por el estrés oxidativo.

archivo adicional

Archivo adicional 1: Figura S1-S4. Los cambios diarios en el peso corporal, la histología de los grupos B, D y E, los niveles séricos de HEL y la abundancia relativa de ARNm de TNF-α.

abreviaturas

MPO: mieloperoxidasa; MDA: malondialdehído; 8-OHdG: 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina; HEL: Hexanoil-Lisina.

Conflicto de intereses Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

Contribuciones de los autores

XJL y SGD contribuyeron igualmente a este trabajo; LY, TY, SY diseñaron el estudio, XJL, SGD y HLY realizaron la investigación, XJL, SGD analizaron los datos, LY, LWJ y VN escribieron el documento. Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito final.

Reconocimiento Yun Lu cuenta con el apoyo del Fondo de Ciencias para la Juventud (No. 21007030) del Comité del Fondo Nacional de Ciencias Naturales.

Detalles del autor

¹State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, PR
Porcelana. ²Laboratorio Estatal de Protección Ambiental Clave de Aplicación de Microorganismos y Control de Riesgos, Universidad de Tsinghua, Beijing 100084, PR China.
³Panasonic Corporation, Appliances Company, 2-3-1-2 Noji-Higashi, Kusatsu-city, Shiga 525-8502, Japón.

Recibido: 13 de agosto de 2013 Aceptado: 25 de febrero de 2014
Publicado: 3 de marzo de 2014

Referencia

1. Brown NJ, Rumsey RD, Read NW: Adaptación del análisis de hidrógeno a medir el tiempo de tránsito del estómago al ciego en la rata. *Tripa* 1987, 28:849–854.

2. Levitt MD: Producción y excreción de gas hidrógeno en el hombre. *N Engl J Med* 1969, 281:122–127.

3. Ebert A, Brune A: perfiles de concentración de hidrógeno en el óxido-anóxico interfaz: un estudio de microsensor del intestino posterior de la termita inferior reticulitermes flavipes (kollar) que se alimenta de madera. *Appl Environ Microbiol* 1997, 63:4039–4046.

4. Lemke T, Van AT, Hackstein JH, Brune A: La transferencia de hidrógeno epitelial cruzada desde el compartimento del intestino medio impulsa la metanogénesis en el intestino posterior de las cucarachas. *Appl Environ Microbiol* 2001, 67:4657–4661.

5. Olson JW, Maier RJ: Hidrógeno molecular como fuente de energía para *Helicobacter pylori*. *Ciencia* 2002, 298:1788–1790.

6. Maier RJ: Uso de hidrógeno molecular como sustrato energético por bacterias patógenas humanas. *Biochem Soc Trans* 2005, 33:83–85.

7. Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, Katsura K, Katayama Y, Asoh S, Ohta S: El hidrógeno actúa como un antioxidante terapéutico al reducir selectivamente los radicales de oxígeno citotóxicos. *Nat Med* 2007, 13:688–694.

8. Fontanari P, Badier M, Guillot C, Tomei C, Burnet H, Gardette B, Jammes Y: Cambios en el rendimiento máximo de los músculos inspiratorios y esqueléticos durante y después de la inmersión humana récord de 7,1 MPa Hydra 10. *Eur J Appl Physiol* 2000, 81:325–328.

9. Abiraini JH, Gardette-Chauffour MC, Martínez E, Rostain JC, Lemaire C: Reacciones psicofisiológicas en humanos durante una inmersión en mar abierto a 500 m con una mezcla de hidrógeno-helio-oxígeno. *J Appl Physiol* 1994, 76:1113–1118.

10. Ito M, Ibi T, Sahashi K, Ichihara M, Ito M, Ohno K: ensayo abierto y ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, cruzado de agua enriquecida con hidrógeno para miopatías mitocondriales e inflamatorias. *Med Gas Res* 2011, 1:24.

11. Nakayama M, Kabayama S, Nakano H, Zhu WJ, Terawaki H, Nakayama K, Katoh K, Satoh T, Ito S: Efectos biológicos del agua electrolizada en hemodíalisis. *Nephron Clin Pract* 2009, 112:c9–c15.

12. Nakayama M, Nakano H, Hamada H, Itami N, Nakazawa R, Ito S: Un nuevo sistema de hemodíalisis bioactiva que utiliza dihidrógeno disuelto (H2) producido por electrólisis del agua: un ensayo clínico. *Nephrol Dial Transplant* 2010, 25:3026–3033.

13. Ono H, Nishijima Y, Adachi N, Tachibana S, Chitoku S, Mukaihara S, Sakamoto M, Kudo Y, Nakazawa J, Kaneko K, Nawashiro H: Índices de resonancia magnética cerebral mejorados en los sitios de infarto agudo del tronco encefálico tratados con eliminadores de radicales hidroxilo, edaravona e hidrógeno, en comparación con edaravona sola: un estudio no controlado. *Med Gas Res* 2011, 1:12.

14. Kang KM, Kang YN, Choi IB, Gu Y, Kawamura T, Toyoda Y, Nakao A: Efectos de beber agua rica en hidrógeno en la calidad de vida de los pacientes tratados con radioterapia por tumores hepáticos. *Med Gas Res* 2011, 1:11.

15. Nakao A, Toyoda Y, Sharma P, Evans M, Guthrie N: Efectividad de agua rica en hidrógeno sobre el estado antioxidante de sujetos con síndrome metabólico potencial: un estudio piloto de etiqueta abierta. *J Clin Biochem Nutr* 2010, 46:140–149.

16. Kajiyama S, Hasegawa G, Asano M, Hosoda H, Fukui M, Nakamura N, Kitawaki J, Imai S, Nakano K, Ohta M, Adachi T, Obayashi H, Yoshikawa T: La suplementación con agua rica en hidrógeno mejora el metabolismo de los lípidos y la glucosa en pacientes con diabetes tipo 2 o intolerancia a la glucosa. *Nutr Res* 2008, 28:137–143.

17. Ohno K, Ito M, Ichihara M, Ito M: hidrógeno molecular como gas médico terapéutico emergente para enfermedades neurodegenerativas y otras. *Oxid Med Cell Longev* 2012, 353152. doi:10.1155/2012/353152.

18. Ohta S: El hidrógeno molecular es un antioxidante novedoso para reducir de manera eficiente el estrés oxidativo con potencial para mejorar las enfermedades mitocondriales. *Biochim Biophys Acta* 1820, 2012:586–594.

19. Hong Y, Chen S, Zhang JM: El hidrógeno como antioxidante selectivo: una revisión de estudios clínicos y experimentales. *J Int Med Res* 2010, 38:1893–1903.

20. Chuai YH, Qian LR, Sun XJ, Cai JM: Hidrógeno molecular y radiación protección. *Free Radic Res* 2012, 46:1061–1067.

21. Ohta S, Nakao A, Ohno K: Simposio de hidrógeno molecular médico de 2011: un simposio inaugural de la revista Medical Gas Research. *Med Gas Res* 2011, 1:10.

22. Fujita K, Seike T, Yutsudo N, Ohno M, Yamada H, Yamaguchi H, Sakumi K, Yamakawa Y, Kido MA, Takaki A, Katafuchi T, Tanaka Y, Nakabeppu Y, Noda M, Rubinstein DC: El hidrógeno en el agua potable reduce la pérdida neuronal dopaminérgica en el modelo de ratón de 1-metil-4-fenil-1, 2, 3, 6-tetrahidropiridina de la enfermedad de Parkinson. *PLoS One* 2009, 4:e7247.

23. Liu Q, Shen WF, Sun HY, Fan DF, Nakao A, Cai JM, Yan G, Zhou WP, Shen RX, Yang JM, Sun XJ: La solución salina rica en hidrógeno protege contra la lesión hepática en ratas con ictericia obstructiva. *Higado Int* 2010, 30:958–968.

24. Ito M, Hirayama M, Yamai K, Goto S, Ito M, Ichihara M, Ohno K: Beber agua hidrogenada y la exposición intermitente al gas hidrógeno, pero no la lactulosa o la exposición continua al gas hidrógeno, previenen la enfermedad de Parkinson inducida por 6-hidroxidopamina en ratas. *Med Gas Res* 2012, 2:15.

25. Li Y, Hamasaki T, Nakamichi N, Kashiwagi T, Komatsu T, Ye J, Teruya K, Abe M, Yan H, Kinjo T, Kabayama S, Kawamura M, Shirahata S: Efectos supresores del agua reducida electrolizada sobre la apoptosis inducida por aloxano y la diabetes mellitus tipo 1. *Citotecnología* 2011, 63:119–131.

26. Saitoh Y, Okayasu H, Xiao L, Harata Y, Miwa N: hidrógeno con pH neutro el agua electrolizada enriquecida logra la inhibición del crecimiento clonal preferencial del tumor sobre las células normales y la inhibición de la invasión tumoral al mismo tiempo que la represión de oxidantes intracelulares. *Oncol Res* 2008, 127:247–255.

27. Ye J, Li Y, Hamasaki T, Nakamichi N, Komatsu T, Kashiwagi T, Teruya K, Nishikawa R, Kawahara T, Osada K, Toh K, Abe M, Tian H, Kabayama S, Otsubo K, Morisawa S, Katakura Y, Shirahata S: efecto inhibitorio del agua reducida electrolizada sobre la angiogénesis tumoral. *Biol Pharm Bull* 2008, 31:19–26.

28. Yoon KS, Huang XZ, Yoon YS, Kim SK, Song SB, Chang BS, Kim DH, Lee KJ: estudio histológico sobre el efecto del baño de agua reducido electrolizado en lesiones cutáneas inducidas por radiación UVB en ratones sin pelo. *Biol Pharm Bull* 2011, 34:1671–1677.

29. Naito Y, Takagi T, Uchiyama K, Tomatsuri N, Matsuyama K, Fujii T, Yagi N, Yoshida N, Yoshikawa T: La administración crónica con agua alcalina electrolizada inhibe la lesión de la mucosa gástrica inducida por aspirina en ratas a través de la inhibición de la expresión del factor alfa de necrosis tumoral. *J Clin Biochem Nutr* 2002, 32:69–81.

30. Rylander R: Componentes del agua potable y enfermedades. *J Nutr* 2008, 138:423s–425s.

31. Cardenal JS, Zhan J, Wang Y, Sugimoto R, Tsung A, McCurry KR, Billiar TR, Nakao A: El agua hidrogenada oral previene la nefropatía crónica por aloinjerto en ratas. *Riñón Int* 2009, 77(2):101–109.
32. Sato Y, Kajiyama S, Amano A, Kondo Y, Sasaki T, Handa S, Takahashi R, Fukui M, Hasegawa G, Nakamura N, Fujinawa H, Mori T, Ohta M, Obayashi H, Maruyama N, Ishigami A: El agua pura rica en hidrógeno previene la formación de superóxido en cortes de cerebro de ratones knockout SMP30/GNL sin vitamina C. *Biochem Biophys Res Commun* 2008, 375:346–350.
33. Nagata K, Nakashima-Kamimura N, Mikami T, Ohsawa I, Ohta S: El consumo de hidrógeno molecular previene las deficiencias inducidas por el estrés en las tareas de aprendizaje dependientes del hipocampo durante la restricción física crónica en ratones. *Neuropsychopharmacología* 2009, 34(2):501–508.
34. Gu Y, Huang CS, Inoue T, Yamashita T, Ishida T, Kang KM, Nakao A: Beber agua con hidrógeno mejoró el deterioro cognitivo en ratones con senescencia acelerada. *J Clin Biochem Nutr* 2010, 46(3):269–276.
35. Lin Y, Kashio A, Sakamoto T, Suzukawa K, Kakigi A, Yamasoba T: El hidrógeno en el agua potable atenúa la pérdida auditiva inducida por el ruido en conejillos de indias. *Neurosci Lett* 2011, 487(1):12–16.
36. Kitamura A, Kobayashi S, Matsushita T, Fujinawa H, Murase K: Verificación experimental del efecto preventivo del agua rica en hidrógeno contra la nefrotoxicidad inducida por cisplatino en ratas usando TC dinámica mejorada con contraste. *Br J Radio* 2010, 83(990):509–514.
37. Ohsawa I, Nishimaki K, Yamagata K, Ishikawa M, Ohta S: El consumo de agua con hidrógeno previene la aterosclerosis en ratones knockout para apolipoproteína E. *Biochem Biophys Res Commun* 2008, 377(4):1195–1198.
38. Kamimura N, Nishimaki K, Ohsawa I, Ohta S: El hidrógeno molecular mejora la obesidad y la diabetes al inducir FGF21 hepático y estimular el metabolismo energético en ratones db/db. *Obesidad (Silver Spring)* 2011, 19:1396–1403.
39. Asako H, Kubes P, Wallace J, Wolf RE, Granger DN: Modulación de la adhesión de leucocitos en vénulas mesentéricas de rata por aspirina y salicilato. *Gastroenterología* 1992, 103:146–152.
40. Yoshida N, Takemura T, Granger DN, Anderson DC, Wolf RE, McIntire LV, Kvietys PR: Determinantes moleculares de la adherencia de neutrófilos inducida por aspirina a las células endoteliales. *Gastroenterología* 1993, 105:715–724.
41. Fiorucci S, Santucci L, Gerli R, Brunori PM, Federici B, Ugolini B, Fabbri C, Morelli A: Los AINE aumentan la expresión de la integrina beta 2 en los neutrófilos humanos a través de una vía dependiente del calcio. *Aliment Pharmacol Ther* 1997, 11:619–630.
42. Andrews FJ, Malcontenti-Wilson C, O'Brien PE: Effect of nonsteroidal anti fármacos inflamatorios en la expresión de LFA-1 e ICAM-1 en la mucosa gástrica. *Am J Physiol* 1994, 266:G657–664.
43. Fiorucci S, Santucci L, Federici B, Antonelli E, Distrutti E, Morelli O, Renzo GD, Coata G, Cirino G, Soldato PD, Morelli A: Los AINE liberadores de óxido nítrico inhiben las cisteína proteasas similares a la enzima convertidora de interleucina-1 β y protegen las células endoteliales de la apoptosis inducida por TNF- α . *Alimento Pharmacol Ther* 1994, 13:412–435.
44. Fiorucci S, Antonelli E, Santucci L, Morelli O, Miglilietti M, Federici M, Mannucci R, Del Soldato P, Morelli A: La seguridad gastrointestinal de la aspirina derivada del óxido nítrico está relacionada con la inhibición de la cisteína proteasa similar a ICE en ratas. *Gastroenterología* 1999, 116:1089–1106.
45. Naito Y, Handa O, Takagi T, Ishikawa T, Imamoto E, Nakagawa S, Yamaguchi T, Yoshida N, Matsui H, Yoshikawa T: El inhibidor de ubiquitina-proteasoma mejora la apoptosis inducida por el factor de necrosis tumoral α de células epiteliales gástricas de rata. *Alimento Pharmacol Ther* 2002, 16:59–66.
46. Sun H, Chen L, Zhou W, Hu L, Li L, Tu Q, Chang Y, Liu Q, Sun X, Wu M, Wang H: El papel protector de la solución salina rica en hidrógeno en la lesión hepática experimental en ratones. *J Hepatol* 2011, 54:471–480.

doi:10.1186/1472-6882-14-81

Citar este artículo como: Xue et al.: Inhibición dependiente de la dosis del daño gástrico por hidrógeno en agua potable electrolizada alcalina. *BMC Medicina Complementaria y Alternativa* 2014 14:81.

Envíe su próximo manuscrito a BioMed Central y aproveche al máximo:

- [Práctico envío en línea](#)
- [Revisión minuciosa por pares](#)
- [Sin limitaciones de espacio ni cargos por figura de color](#)
- [Publicación inmediata de la aceptación](#)
- [Inclusión en PubMed, CAS, Scopus y Google Scholar](#)
- [Investigación que está disponible gratuitamente para su redistribución](#)

Envíe su manuscrito a
www.biomedcentral.com/submit

