

Trabajo completo

Evaluación del estado nutricional y metabolismo hepático en ratas macho expuestas crónicamente a la ingesta de glutamato monosódico

RECIBIDO: 06/03/2017

REVISION: 12/06/2017

ACEPTADO: 22/08/2017

Contini, M. del C.^{1*} • Millen, N.¹ • Benmelej, A.² • Fabro, A.² • Mahieu, S.¹

¹ Laboratorio de Investigaciones Nutricionales. Cátedra Evaluación Nutricional. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina.

² Cátedra Morfología Normal. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina.

* Correspondencia: María del Carmen Contini. Laboratorio de Investigaciones Nutricionales. Cátedra Evaluación Nutricional. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria. CC 242. Santa Fe (3000). Argentina. TE: 54-342-4575216. Int. 160. mcontini@fbc.unl.edu.ar

RESUMEN: La ingesta de GMS (glutamato monosódico) se ha relacionado con múltiples acciones post-ingesta por eso investigamos los efectos de la ingesta crónica. Trabajamos en ratas Wistar macho divididas en dos grupos: control y GMS. El consumo de GMS aumentó el peso corporal, el IMC, la circunferencia abdominal y la grasa retroperitoneal. Las ratas presentaron alteraciones en la tolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia con resistencia a la insulina y dislipidemia. Los niveles de triglicéridos y de glucógeno hepáticos fueron significativamente mayores. GMS no afectó significativamente la peroxidación lipídica hepática. El aumento de las actividades

de GPx y GR fue acompañado con una disminución en la de SOD, sin cambios en la de CAT. La valoración histológica mostró que el GMS induce diferentes grados de degeneración, inflamación e hialinización en hepatocitos, con pocos focos de necrosis. La ingesta de GMS ejerció efectos sobre el metabolismo de los carbohidratos y lípidos, sin cambios importantes en el estado oxidativo pero con inducción de alteraciones de la histología hepática.

PALABRAS CLAVES: Glutamato monosódico, metabolismo de carbohidratos y lípidos, función hepática e histología, estado nutricional.

SUMMARY: *Evaluation of nutritional status and hepatic metabolism in male rats chronically exposed to monosodium glutamate intake*

As MSG (monosodium glutamate) intake has been related to multiples post ingestive effects then, we investigate the effects of chronic administration. MSG intake increased body weight, BMI, abdominal circumference and retroperitoneal fat. Rats had impaired glucose tolerance, hyperinsulinemia with insulin resistance and dyslipidemia. Triglycerides and glycogen levels in liver were significantly higher in MSG rats. MSG did not affect significantly the liver lipid peroxidation; the increase

both GPx and GR was accompanied with a decrease in SOD activity, without change in catalase activity. The histological assessment showed that the MSG induces different degrees of hydropic degeneration, inflammation and hyalinization in hepatocytes, with few foci of necrosis. MSG intake exerted effects on carbohydrate and lipid metabolism, without important changes in status oxidative and as well, induced liver histological changes.

KEYWORDS: Monosodium glutamate, carbohydrate and lipid metabolism, liver function and histology, nutritional status.

INTRODUCCIÓN

El glutamato (GLU) es un componente de la proteína dietética y también se ingiere en muchos alimentos procesados como un aditivo en la forma de glutamato monosódico. GLU también es un precursor importante para moléculas bioactivas, incluyendo el glutatión y funciona como neurotransmisor clave.

L- glutamato monosódico (GMS), una sal sódica de GLU, es conocido por provocar una sensación de sabor diferente conocida como "umami". El sabor umami puede ser reconocido en una gran variedad de alimentos ricos en glutamato como carne, pescado, queso, tomate y algunas verduras (1) y es ampliamente utilizado como resalador del sabor en una variedad de comidas. Umami, el "quinto sabor", asociado con GMS es una cualidad de sabor primario con múltiples sensores tanto en la zona oral como post oral (2, 3).

La presencia de receptores glutamatérgicos se ha demostrado fuera del sistema nervioso central, en hígado, riñón, bazo,

pulmón y testículos (4- 6). Los receptores de GLU están presentes en las células receptoras del gusto en la cavidad oral (7, 8), en estómago e intestino, y el glutamato oral influye en las funciones secretoras del intestino (9, 10). La infusión de glutamato en el lumen del estómago o del intestino estimula la actividad de los nervios vagales aferentes y eferentes, la motilidad intestinal y la actividad secretora (11-14).

Cuando el glutamato se consume, puede ejercer efectos post-ingestivos que podrían estar mediados por diversos mecanismos, como la producción de metabolitos, la liberación de hormonas, la estimulación de la actividad vagal o los cambios en la secreción gastrointestinal (9, 11, 12).

La preferencia por GMS sugiere un proceso de condicionamiento al sabor basado en los efectos post-orales de GMS: su sabor se vuelve más atractivo debido a su asociación con efectos gratificantes detectados en el intestino (15).

El consumo de glutamato ha aumentado en los últimos años en todo el mundo utilizándose como saborizante en la cocción para aumentar la palatabilidad y la selección de alimentos en una comida (16). La ingesta diaria promedio actual (IDA) es de aproximadamente 10 g / día y esto fue considerado como el perfil óptimo de seguridad del glutamato (17). Por otra parte se ha planteado la posibilidad de que el GLU constituya un factor de riesgo en la inducción de la obesidad epidémica, ya que los datos obtenidos en modelos animales (18, 19) como los estudios en humanos (20, 21) sugieren una relación entre GMS y sobrepeso / obesidad.

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la ingesta crónica de GMS en los marcadores de la obesidad, el metabolismo de la glucosa y los lípidos, así como la función hepática y el estado oxidativo en ratas macho. También se investigó la asociación de estos cambios con los efectos sobre la histología hepática.

Materiales y métodos

Animales y tratamientos

Se utilizaron veinticuatro ratas Wistar macho de 5 semanas de edad. Los animales fueron alojados en condiciones de temperatura (22-24 °C) y humedad (45-50%) constantes, con un ciclo luz-oscuridad de 12 h. Las ratas recibieron alimento estándar ad libitum, que contenía aproximadamente 23% de proteína, 5% de grasa, 56% de carbohidratos y 6% de fibra y se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos. Las ratas fueron alojadas en jaulas metabólicas para determinar la ingesta de alimentos y soluciones.

Grupo GMS (GMS): GMS, monohidrato 99% (grado alimentario puro) se diluyó en 50 μ l de agua desionizada (0,3 g / 100 g

de peso corporal (PC)) y se añadió a 0,1 g de queso de bajas calorías justo antes de la administración, cinco días a la semana, durante 12 semanas, para asegurar la ingesta voluntaria y rápida de la cantidad total. Las ratas tuvieron acceso libre a una solución de GMS al 1% (g/dl) permanentemente durante el mismo período. Esta cantidad se eligió porque no afecta la aceptabilidad de GMS en los roedores (22). Este régimen da lugar a una exposición de $0,425 \pm 0,010$ g / 100 g PC de GMS al día. Los alimentos representan la vía más común de exposición al GMS razón por la cual se eligió esta forma de administración.

Grupo Control (C): se examinaron los efectos de la misma cantidad de sodio que contiene el GMS del grupo tratado pero bajo la forma de NaCl en un grupo de control. Este grupo recibió el alimento estándar suplementado con NaCl en una dosis de 0,1 g / 100 g de PC diaria, que permitía la incorporación de Na, administrada con queso de bajas calorías y solución de NaCl al 0,35% (g/dl) permanentemente a la misma frecuencia y tiempo. La dosis diaria de NaCl ingerida es mucho menor que la relacionada con la reducción de la ingesta de alimentos debido al sabor aversivo de NaCl (10%) (23).

El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Investigación Humana y Animal de la Facultad de Bioquímica de la Universidad del Litoral- Santa Fe- Argentina.

Parámetros antropométricos y marcadores de obesidad

El PC se midió una vez por semana hasta los 4 meses de edad. Se determinó la circunferencia abdominal (inmediatamente anterior a las patas traseras), la circunferencia torácica (inmediatamente posterior

a las patas delanteras) y la longitud corporal (naso - anal) en todas las ratas a los 30, 60 y 90 días de tratamiento. El peso corporal y la longitud corporal se utilizaron para determinar los siguientes parámetros antropométricos: índice de masa corporal (IMC): peso corporal (g) / longitud² (cm²) e índice de Lee (24) [la raíz cúbica del peso corporal (g) dividido por la longitud naso-anal (cm)], empleado como predictor de la obesidad.

Prueba de tolerancia a la glucosa intravenosa (TTGI)

El TTGI se realizó en los grupos GMS y C (n = 6 para cada grupo) al final del tratamiento, bajo anestesia con pentobarbital sódico (50 mg / kg de peso corporal, ip). Después de un ayuno nocturno de 8 h, se infundió en los animales a través de la vena femoral, una carga de glucosa al 50% (0,75 g / kg de peso corporal). Se obtuvieron muestras de sangre por corte de cola para las determinaciones de glucemia inmediatamente antes de la carga de glucosa (tiempo cero) y a los 10, 20, 30, 40, 50 y 60 min después de la sobrecarga. Posteriormente, se calculó la constante de velocidad de desaparición de la glucosa en plasma (kTTGI) a partir de la regresión lineal del logaritmo neperiano de las concentraciones de glucosa. Los resultados se expresaron como kTTGI (% min⁻¹).

Prueba de tolerancia a la insulina (TTI)

Se realizó una prueba de tolerancia a la insulina al finalizar el tratamiento (n = 6 para cada grupo). Después de un ayuno nocturno de 8 h, se inyectó 0,75 U/kg de peso corporal de insulina (NPH -Novo Nordisk Production) en los animales a través de la vena femoral, y se obtuvieron muestras sangre por corte de cola para la determinación de glucemia

a 0 (basal), 4, 8, 12 y 16 minutos después de la inyección. A continuación, se calculó la constante de velocidad de desaparición de la glucosa en plasma (kTTI) mediante la fórmula $0.693 / (t_{1/2})$. El $t_{1/2}$ de la glucosa plasmática fue obtenido a partir del ajuste de la recta de decaimiento por el método de los cuadrados mínimos. Los resultados se expresaron como kTTI (% min⁻¹) (25).

Obtención de sangre, tejidos y procesamiento

Al concluir el tratamiento, ratas pertenecientes a ambos grupos (n=6, cada uno) en condiciones no ayunadas, se pesaron y sacrificaron mediante exsanguinación bajo anestesia por inyección de pentobarbital sódico (50 mg / kg por vía ip).

El hígado y los depósitos de grasa epididimal y retroperitoneal fueron aislados y pesados. Una parte del hígado se procesó para histología, otra fue congelada y almacenada en nitrógeno líquido para la estimación de parámetros de estrés oxidativo. En la tercera parte se determinó el contenido de glucógeno y triglicéridos.

Al final del período de alimentación, bajo condiciones de ayuno durante 10 horas con acceso libre al agua destilada, se anestesiaron ratas de GMS y Control (n = 6, cada una) mediante inyección de pentobarbital sódico (50 mg / kg PC, ip). Se recogió sangre por punción cardíaca y se colocaron las muestras en tubos sin anticoagulante obteniendo suero para la cuantificación de diferentes parámetros.

Análisis en suero

En suero se determinaron glucosa, triglicéridos (TG), colesterol total (CT), colesterol HDL (C-HDL), aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT),

fosfatasa alcalina (ALP) y urea por métodos enzimáticos y colorimétricos utilizando kits comerciales (Wiener SA, Argentina). La insulina se determinó mediante un kit de inmunoensayo enzimático (SPI-BIO, Francia) usando un lector de ELISA.

Índices de la homeostasis sérica glucosa-insulina

Se determinó el índice de evaluación del modelo de homeostasis (HOMA), que caracteriza la sensibilidad a la insulina y la capacidad de secreción de insulina, a través de la fórmula: resistencia a la insulina = $(\text{insulina ayunas} \times \text{glucosa ayunas}) / 22,5$ (26) y el índice de sensibilidad hepática a la insulina (ISHI) utilizando la siguiente fórmula: $k / (\text{insulina ayunas} \times \text{glucosa en ayunas})$ donde $k = 22,5 \times 18$ (27).

Contenido de glucógeno y triglicéridos en tejido hepático

El contenido de triglicéridos y glucógeno se determinó en un homogenado de muestras correspondientes a tres lóbulos hepáticos diferentes ($n = 6$ cada grupo). La cantidad de triglicéridos en el tejido hepático se obtuvo por el método de Laurell (28). El contenido de glucógeno en homogenado hepático se cuantificó con el método de hidrólisis ácida de Passonneau y Landerdale (29).

Determinación de marcadores de estrés oxidativo

Porciones de tejido hepático ($n=6$ cada grupo) fueron homogenizados con un homogeneizador Polytron en diferentes buffers, como se indica: 1) buffer sacarosa (sacarosa 0,25 M, Tris-HCl 10 mM, (pH 7,0) para medir la actividad de superóxido dismutasa; 2) buffer fosfato 50 mM (pH 7,0)

con EDTA 1 mM, para medir las actividades de la glutatión peroxidasa (GPx), la glutatión reductasa (GR) y la catalasa (CAT); 3) KCl frío al 1,15% para medir sustancias reactivas con ácido tiobarbitúrico (TBARS); 4) buffer fosfato 0,1 M (pH 7,5) con EDTA 5 mM para GSH y GSSG; y 5) buffer fosfato 10 mM (pH 7,4) con KCl 11,5 g/l para el contenido de carbonilo en proteínas modificadas por la oxidación.

La actividad de SOD se ensayó de acuerdo con el método de Misra y Fridovich (30). La actividad de GPx se determinó de acuerdo con el método de Lawrence y Burk (31). La actividad de GR se ensayó de acuerdo con el método descrito por Horn y Burns (32) modificado y se determinó la actividad de CAT siguiendo el método de Aebi (33). TBARS se ensayó de acuerdo con el método de Ohkawa (34) y proteína carbonilos (PCO) por Levine (35). La determinación de GSH y GSSG se midió por el método enzimático de Griffith (36). La concentración de proteína en homogenados de hígado se determinó por el método de Lowry (37) con albúmina sérica bovina como estándar.

Examen histopatológico

Tejidos hepáticos ($n = 6$, cada grupo) se fijaron en formalina tamponada al 10% (pH 7,2), se deshidrataron a través de una serie de soluciones de etanol, se trataron con parafina y se procesaron rutinariamente para análisis histológico. Secciones de $5 \mu\text{m}$ de espesor se cortaron y se tiñeron con hematoxilina-eosina (para examen histológico general), ácido peryódico-Schiff (PAS) y tinción tricrómica de Masson (para demostración de deposición de colágeno) y se examinaron por microscopía óptica.

Los cambios histológicos del hígado se evaluaron utilizando un sistema de puntuación semicuantitativa (**Tabla 1**). La degeneración hidrópica, los cuerpos de Mallory y la necrosis se evaluaron contando 100 campos con un aumento de 600x. Se examinaron 30

campos (200x) para determinar la infiltración inflamatoria. Todas las determinaciones histológicas fueron realizadas por dos observadores diferentes, ciegos con respecto a la identidad del tejido bajo análisis.

Tabla 1. Criterios para la evaluación histológica de los grados de degeneración hidrópica, de hialinización, de inflamación y de necrosis del tejido hepático

Daño en los hepatocitos	Características	Grado	
Degeneración hidrópica (Tumefacción)	Sin vacuolas	0	
	Micro vacuolas	1	
	Micro + vacuolas medias	2	
	Micro + media + macrovacuolas (mezcla)	3	
Hialinización (Cuerpos de Mallory)	Ausentes	0	
	Presentes	< 3 %	1
		4-10 %	2
Inflamación	Presente	> 10 %	3
		Ausente	0
		1 x campo	1
		2 x campo	2
Necrosis		3 x campo	3
		< 5%	0

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como promedio \pm E.S.M (error estándar de la media). La comparación entre el control y los grupos de GMS se llevó a cabo utilizando la prueba de Student o Mann Whitney U-test. Se aceptó un valor de $p < 0,05$ como significativo en todos los casos. El análisis estadístico se realizó con SPSS - PASW Statistics 18.0.

Resultados

Parámetros antropométricos y acumulación de grasa en ratas adultas

El peso corporal inicial fue similar en ambos grupos. Sin embargo, el grupo GMS incrementó el peso corporal final, con aumento de

la ganancia de peso respecto al grupo control. El peso relativo del hígado fue similar en ambos grupos. La ingesta diaria de alimentos (g/día) y de solución (ml/día) no difirió significativamente entre los grupos (**Tabla 2**). A las doce semanas de tratamiento, la longitud naso-anal, la circunferencia torácica y el índice de Lee fueron comparables en ambos grupos. El IMC, la circunferencia abdominal y el peso de la grasa retroperitoneal fueron más altos en el grupo GMS que en el grupo control (**Tabla 3**).

Tabla 2. Peso corporal inicial, peso corporal final, peso hepático relativo e ingesta de alimento y solución al finalizar el tratamiento

Parámetros	C (n= 6)	GMS (n= 6)
Peso corporal inicial (g)	93 ± 2	87 ± 3
Peso corporal final (g)	328 ± 6	367 ± 10*
Ganancia de peso (g)	239 ± 6	292 ± 14*
Peso relativo del hígado (g/100 g p.c.)	3,44 ± 0,08	3,45 ± 0,04
Consumo de alimento (g d ⁻¹ rata ⁻¹)	23,9 ± 0,9	24,9 ± 0,5
Ingesta de solución (ml d ⁻¹ rata ⁻¹)	45,5 ± 1,0	46,4 ± 2,0

Datos expresados como la media ± ESM (6 ratas en cada grupo). Grupos: C: ratas control; GMS: ratas tratadas con GMS. * Estadísticamente diferente a los valores del grupo control (p < 0,05)

Tabla 3. Parámetros antropométricos y marcadores de obesidad al finalizar el tratamiento

Parámetros	C (n=6)	GMS (n=6)
Longitud naso-anal (cm)	22,5 ± 0,2	23,3 ± 0,3
Circunferencia abdominal (cm)	16,5 ± 0,2	18,6 ± 0,4*
Circunferencia torácica (cm)	14,8 ± 0,3	15,7 ± 0,4
Índice de Lee	0,294 ± 0,002	0,300 ± 0,012
IMC (g/cm ²)	0,566 ± 0,011	0,62 ± 0,05*
Peso grasa retroperitoneal (g/100 g p.c.)	0,37 ± 0,02	0,54 ± 0,02*

Datos expresados como la media ± ESM (6 ratas en cada grupo). Grupos: C: ratas control; GMS: ratas tratadas con GMS. * Estadísticamente diferente a los valores del grupo control (p < 0,05)

Glucosa e insulina plasmática en ayunas.

Índices de la homeostasis sérica glucosa-insulina

El TTGI and TTI fueron realizados para verificar si las dietas con alto contenido en GMS en nuestro protocolo experimental, eran capaces de inducir resistencia a la insulina. Mientras que la glucemia en ayu-

nas no se modificó, las ratas tratadas con GMS presentaron niveles significativamente elevados de insulina en ayunas. HOMA-IR permitió comprobar que altos niveles de GMS fueron efectivos para inducir resistencia a la insulina, así como ISHI fue el indicador que mostró una reducción de la sensibilidad del hígado a la insulina (**Tabla 4**).

Tabla 4. Concentraciones séricas de glucosa e insulina, kTTGI, kTTI, Resistencia a la insulina (HOMA) y sensibilidad hepática a la insulina (ISHI) al finalizar el tratamiento

Parámetros	C (n= 6)	GMS (n= 6)
Glucosa (mg/dl)	80,0 ± 0,03	86,0 ± 0,0
Insulina (μUI/ml)	0,52 ± 0,11	1,19 ± 0,10*
kTTGI (% min ⁻¹)	1,93 ± 0,20	1,24 ± 0,08*
kTTI (% min ⁻¹)	6,46 ± 0,33	4,20 ± 0,69*
HOMA	2,17 ± 0,33	5,77 ± 0,41*
ISHI	9,62 ± 1,72	3,16 ± 0,41*

Datos expresados como la media ± ESM (6 ratas en cada grupo). Grupos: C: ratas control; GMS: ratas tratadas con GMS. * Estadísticamente diferente a los valores del grupo control (p < 0,05)

Efectos de GMS sobre el contenido de triglicéridos y glucógeno hepático.

En hígado, el contenido tanto de triglicéridos como de glucógeno fue significativamente superior en el grupo GMS comparado con el grupo control. Triglicéridos ($\mu\text{mol/g pc}$): C (n=6) $7,12 \pm 0,5$; GMS (n=6) $9,16 \pm 0,07^*$. Glucógeno ($\mu\text{mol/g pc}$): C (n=6) $202,7 \pm 5,6$; GMS (n=6) $279,6 \pm 2,1^*$ ($p < 0,05$).

Efecto de GMS sobre parámetros bioquímicos séricos

En la **Tabla 5** están resumidos los valores de las enzimas hepáticas, el perfil lipídico y la concentración de urea en suero. GMS no afectó los niveles de ALT, AST, ALP y urea séricos. TG, colesterol total and C-HDL estuvieron significativamente aumentados en el grupo GMS.

Tabla 5. Efecto del suplemento con GMS en los niveles plasmáticos de las enzimas hepáticas, urea y perfil lipídico

Parámetros	C (n= 6)	GMS (n= 6)
Alanina aminotransferasa (ALT)U/l	18,18 ± 1,93	18,20 ± 1,43
Aspartato aminotransferasa (AST) U/l	22,50 ± 2,97	19,40 ± 1,50
Fosfatasa Alcalina (ALP) U/l	330,9 ± 51,4	353,3 ± 94,1
Colesterol total (mmol/l)	0,39 ± 0,06	0,55 ± 0,03*
Colesterol HDL (mmol/l)	0,16 ± 0,01	0,35 ± 0,04*
Triglicéridos (mmol/l)	0,86 ± 0,05	1,24 ± 0,04*
Uremia (g/l)	0,35 ± 0,02	0,39 ± 0,04

Datos expresados como la media ± ESM (6 ratas en cada grupo). Grupos: C: ratas control; GMS: ratas tratadas con GMS. * Estadísticamente diferente a los valores del grupo control ($p < 0,05$)

Marcadores de estrés oxidativo

Antioxidantes no enzimáticos y la actividad de enzimas antioxidantes hepáticas así como TBARS y PCO están resumidos en **Tabla 6**. La relación GR/GPx no mostró

diferencia entre grupos, pero las relaciones CAT/SOD y GPx/SOD aumentaron significativamente en el grupo GMS respecto al grupo Control.

Tabla 6. Efectos de GMS sobre los marcadores de estrés oxidativo en hígado

Parámetros	C (n= 6)	GMS (n= 6)
TBARS nmol MDA/ mg prot	0,30 ± 0,02	0,30 ± 0,03
PCO nmol carbonyl/ mg prot	0,65 ± 0,09	0,69 ± 0,10
GSH nmol/ mg prot	31,9 ± 0,8	30,1 ± 0,5
GSSG nmol/ mg prot	4,2 ± 0,3	4,1 ± 0,4
GPx nmol/ min. mg prot	53,8 ± 2,3	73,8 ± 1,1*
GR nmol/ min.mg prot	38,5 ± 3,1	53,8 ± 2,3*
CAT U/ mg prot	417,2 ± 31,2	487,2 ± 33,8
SOD U/ mg prot	25,45 ± 0,26	18,10 ± 1,40*
GR/GPx	0,72 ± 0,05	0,64 ± 0,02
CAT/SOD	16,3 ± 2,1	27,0 ± 1,2*
GPx/SOD	2,11 ± 0,07	4,14 ± 0,027*

Datos expresados como la media ± ESM (6 ratas en cada grupo). Grupos: C: ratas control; GMS: ratas tratadas con GMS. * Estadísticamente diferente a los valores del grupo control ($p < 0,05$)

Examen histopatológico del tejido hepático

El hígado de las ratas control mostró una arquitectura histológica normal. En el grupo GMS, el análisis histopatológico reveló la presencia de lesiones hepatocelulares, tal como diferentes grados de degeneración hidrópica, acúmulos de cuerpos hialinos eosinófilos y procesos inflamatorios caracterizados por la infiltración de células mononucleares.

Se encontraron cambios vacuolares, de moderados a severos, a través del parén-

quima hepático. En las ratas tratadas con GMS se observó una discreta necrosis focal de los hepatocitos rodeados por agregados mononucleares y cuerpos de Mallory, sin presencia de fibrosis.

Las lesiones afectaron diferentes áreas del lóbulo, incluyendo las regiones centrolobular, zona media y zona periportal. (**Fig 1, Fig 2: A, B, C, D, E**). La **Tabla 7** detalla el score registrado en los dos grupos de ratas.

Table 7. Grados de degeneración hidrópica, hialinización, inflamación y necrosis en ratas control y tratadas con GMS

Grados	C (n = 6)	GMS (n= 9)
Degeneración Hidrópica		
0 - 1	100%	22%
2 - 3	0%	78%
Hialinización		
0 - 1	100%	78%
2 -3	0%	22%
Inflamación		
0 - 1	100%	44%
2 - 3	0%	56%
Necrosis		
0 - 1	100%	89%
2 - 3	0%	11%
Score Total		
0 - 2	100%	0%
3 - 4	0%	11%
5 - 8	0%	89%

n: número de animales en cada grupo;
% de muestras de tejido examinado

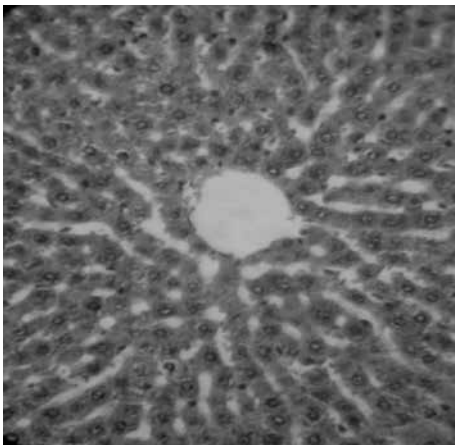


Figura 1. Histología de hígado en ratas control. Aumento 200X.

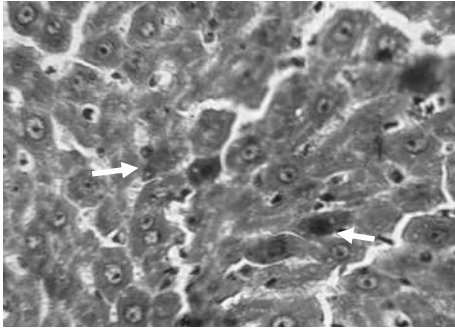


Figura 2.A. Histología de hígado en ratas GMS. Células hialinas y Cuerpos de Mallory entre hepatocitos. Aumento 600X.

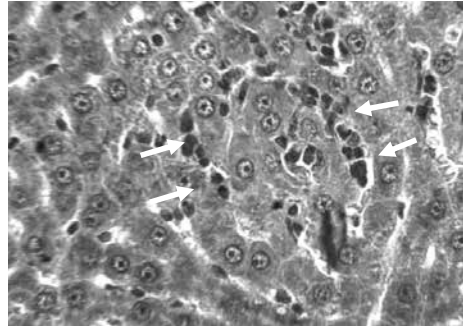


Figura 2.B. Histología de hígado en ratas GMS. Infiltrado de células mononucleares entre células lobulares. Aumento 600X.

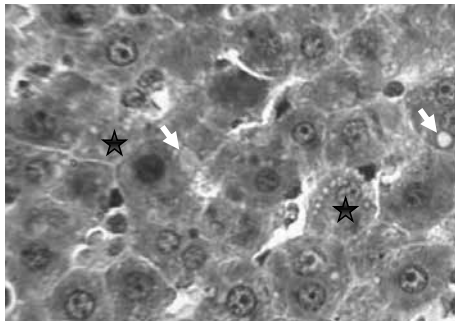


Figura 2.C. Histología de hígado en ratas GMS. Diferentes grados de degeneración hidrópica en los hepatocitos, microvacuolas (estrellas) y vacuolas medias (flechas). Aumento 600x.

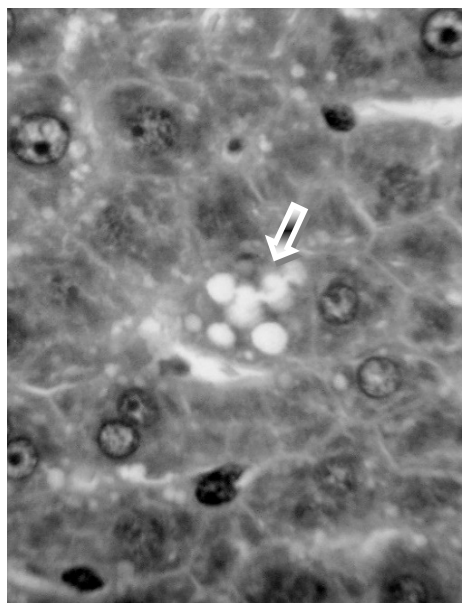


Figura 2.D. Histología de hígado en ratas GMS. Degeneración hidrópica de los hepatocitos: macrovacuolas, células agrandadas; citoplasma espumoso. Aumento 600X.

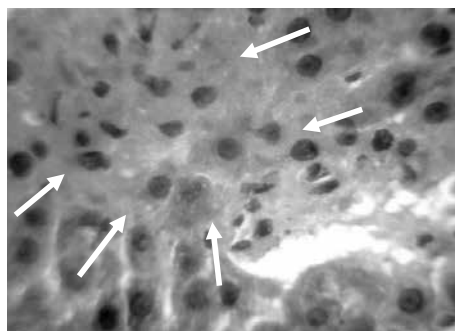


Figura 2.E. Histología de hígado en ratas GMS. Necrosis de hepatocitos. Necrosis focal localizada cerca de la vena centrolobulillar. Aumento 600X .

Discusión

La proteína de la dieta es capaz de proporcionar hasta un 20% de glutamato, pero éste se metaboliza en la mucosa intestinal durante la absorción, y el glutamato es escaso o está ausente en circulación portal en condiciones normales (38).

Los resultados de este estudio muestran que el grupo GMS presentó un aumento significativo en el peso corporal final, mayor que el del grupo control, sin diferencias ni en la ingesta voluntaria de alimentos ni de la solución de GMS. Este resultado concuerda con lo encontrado por Ashry y col. (18). En contraste con este efecto, Diniz y col. (39) no encontraron cambios en el peso corporal, a pesar de que las ratas GMS consumieron mayores cantidades de alimento, y los resultados de Kondho y Torii (40) sugieren que la ingesta de GMS reduce la ganancia de peso y la masa grasa corporal. Por otra parte, ratas tratadas con glutamato monosódico en etapa neonatal, desarrollan obesidad hipotalámica con hiperfagia y reducción de la talla (41, 42); sin embargo, los efectos de la administración oral de GMS sobre talla y peso son contradictorios de acuerdo a lo observado utilizando diferentes modelos experimentales y dosis variadas (18, 39, 40, 43, 44, 45). Aunque en nuestro estudio, el índice de Lee fue similar en ambos grupos, las ratas GMS mostraron un mayor índice de masa corporal y de circunferencia abdominal, ambos indicadores de adiposidad visceral, sin cambios en la circunferencia torácica, que está influenciada por las masas muscular y ósea. El aumento de la circunferencia abdominal podría estar relacionado con el incremento de la grasa retroperitoneal observado.

El glutamato es un amino ácido gluconeogénico que se puede convertir en glu-

cosa en el hígado. Esta glucosa se libera a circulación general (y estimula la secreción de insulina) o se almacena en el hígado bajo la forma de glucógeno. Alternativamente, el esqueleto de carbono del glutamato puede ser oxidado a través del ciclo del ácido tricarbóxico para generar energía, y su nitrógeno se puede convertir en urea (46).

En nuestro estudio, la ingesta de GMS durante 12 semanas indujo cambios significativos en indicadores metabólicos y endocrinos, tales como hiperinsulinemia con normogluceemia y aumento del índice HOMA-IR, con reducción de kTTI. A pesar de que la gluceemia en ayunas se mantuvo dentro de rangos normales, el agregado de glutamato monosódico a la dieta alteró el metabolismo de los hidratos de carbono, como lo refleja la reducción de kTTGI. La hiperinsulinemia sería suficiente para cubrir la demanda excesiva de insulina condicionada por la resistencia a la insulina generalizada, y del hígado, en particular, (disminución ISHI) demostrada por la intolerancia a la glucosa. Otros autores, utilizando dosis más altas de glutamato monosódico, observaron hipergluceemia e hiperinsulinemia con desarrollo de resistencia a la insulina (39, 47).

El aumento de la resistencia a la insulina con la reducción de la sensibilidad hepática, determinaría un aumento de la gluconeogénesis, pero como en las etapas estudiadas existe normogluceemia, parte de la glucosa formada se depositaría como glucógeno, tal como lo refleja el aumento de los niveles del mismo en hígado. Los grupos de GMS y Control no mostraron diferencias significativas en la concentración de urea sérica.

Por otra parte, el aumento de la grasa retroperitoneal y del IMC fue acompañado por un incremento en el contenido hepático

de triglicéridos, y de niveles séricos elevados de TG, colesterol total y C-HDL. Estos datos son consistentes con los resultados de Collison y col. (48), que demostraron que la presencia de GMS en las dietas aumenta la concentración sérica de TG, de C-HDL y de los ácidos grasos libres y activan los genes implicados en el almacenamiento, la oxidación y el aclaramiento de lípidos exógenos a través de la activación de la vía de los ácidos biliares. Además, otro estudio encontró que cantidades elevadas de GMS en la dieta aumentan los niveles de triglicéridos y leptina séricos en ratas macho (39). Otros autores no observaron cambios en el perfil de lípidos por efecto de GMS (40, 45).

La disfunción endocrina-metabólica, con alteraciones en el metabolismo de carbohidratos y lípidos, se acompaña a menudo con cambios en los marcadores de estrés oxidativo. En el hígado, la defensa antioxidante está constituida por el ciclo redox de GSH en la que están implicadas las enzimas GPx y GR. GSH tiene un papel central en la biotransformación y la eliminación de xenobióticos, y protege a las células contra el estrés oxidativo (49). Otras enzimas antioxidantes entre las que se destacan la SOD, CAT y GPx degradan especies reactivas del oxígeno (ROS). Por lo tanto, el estrés oxidativo estará presente si el equilibrio entre la producción de ROS y la acción de las defensas antioxidantes desaparece.

En nuestro modelo experimental, la adición de GMS a la dieta no afectó significativamente la peroxidación de los lípidos del hígado, ya que no se observaron cambios en los TBARS y ni en el contenido de PCO. Por otra parte, las cantidades de GSH y GSSG, así como la relación entre el GSH / GSSG no difirieron entre los dos grupos en estudio. A pesar de que el GMS no modi-

fica la homeostasis del GSH, el aumento de la actividad tanto de GPx y GR, sin cambios en la relación GPx / GR podría estar indicando un aumento del turnover de GSH en presencia de una disfunción endocrina metabólica.

Con respecto a la actividad enzimática, el aumento de GPx y de GR fue acompañado por una disminución de la actividad de SOD, sin cambios en la actividad de la catalasa. Se sabe que la actividad de GPx es importante para predecir el estado redox de un tejido (50), por lo tanto el aumento de la relación de GPx / SOD sugeriría resistencia al estrés oxidativo, estimulando la formación de $O_2^{\cdot-}$ (descompuesto por SOD), más que H_2O_2 (formado por SOD y descompuesto por GPx o CAT). Se ha sugerido que estas variaciones en las enzimas antioxidantes podrían limitar el daño oxidativo, ya que $O_2^{\cdot-}$ tiene una vida media más corta, es menos permeable en la membrana y por lo tanto menos nocivo que el H_2O_2 (51). Si bien no hay cambios en la actividad CAT, una mejor relación CAT / SOD indicaría un aumento de la resistencia al daño oxidativo. Estos datos coinciden en parte con los obtenidos por Maluly y col (45) que no observaron cambios en los sistemas implicados en la protección del estrés oxidativo.

En oposición a los datos anteriores, ratas tratadas con grandes cantidades de GMS (39, 41) muestran en plasma, un incremento de hidroperóxidos lípidicos con disminución de las sustancias antioxidantes totales lo que estaría indicando un desequilibrio del sistema antioxidante / oxidante y un aumento del estrés oxidativo. También se observó un aumento TBARS, asociado con una disminución de la actividad de catalasa (52) y con la reducción de los niveles de GSH hepático en ratas tratadas con

GMS (18). El aumento del estrés oxidativo se ha observado tanto en ratas con administración de GMS por un corto período de tiempo (18, 53), así como en respuesta a un tratamiento agudo con GMS por vía intraperitoneal (54).

En nuestro caso, se podría suponer que el “aparente” bajo impacto al GMS en el sistema antioxidante hepático, se debería a su mayor contenido de enzimas antioxidantes respecto a otros órganos y a su capacidad de iniciar cambios metabólicos capaces de neutralizar la producción excesiva de ROS (55). La exposición a GMS en las primeras etapas de desarrollo y durante 3 meses podría haber generado adaptaciones en el funcionamiento hepático.

En este estudio, los niveles séricos de ALT, AST y ALP observados en ratas GMS no indican alteración hepática. Sin embargo, niveles séricos de indicadores bioquímicos hepáticos sin cambios, no excluyen la posibilidad de aparición de lesiones hepáticas cuando el organismo está expuesto a agentes potencialmente hepatotóxicos. Un hallazgo notable de este estudio fue que la administración GMS indujo diferentes grados de degeneración hidrópica, inflamación e hialinización en los hepatocitos, con escasos focos de necrosis. La degeneración hidrópica está vinculada con la aparición de edema intracelular reversible, como consecuencia de agresiones tóxicas, infecciosas o inmunes. La degeneración celular hidrópica constituye la primera demostración en casi todas las formas de agresión a las células. El aumento en el volumen celular y su aclaramiento se asocia con la formación de micro-vacuolas citoplásmicas o espacios claros, como resultado de la acción de agentes perjudiciales que causan la acumulación intracelular de sodio y aumento en el contenido de agua (56). Ade-

más, la degeneración hidrópica puede estar relacionada con el mayor contenido de glucógeno que se encuentra en el hígado. Hemos verificado en el hígado de los animales tratados con GMS, la presencia de degeneración hidrópica micro, medio y macro vacuolar e hialinización discreta. Por otra parte, se detectó la aparición de reacciones inflamatorias significativas con la presencia de células mononucleares. Las células inflamatorias estuvieron distribuidas sobre todo en zonas del parénquima, y áreas intermedia y periportal, lo que indicaría un posible efecto hepatotóxico de GMS en el hígado de las ratas tratadas. Este hallazgo está de acuerdo con el trabajo de Nakanishi y col. (57), que proporciona evidencia de que el tratamiento con GMS en ratones es un promotor de la inflamación y la displasia hepática. Por otra parte, en un estudio de tratamiento agudo con GMS, se observó edema, degeneración y necrosis en hígado con aumento de las enzimas hepáticas y de productos de peroxidación de lípidos (54). Por el contrario, Maluly y col (45), no observaron alteraciones en los parámetros hepáticos histológicos de ratas expuestas a GMS.

En conclusión, nuestros resultados demuestran que la adición de GMS en la dieta de las ratas durante un periodo prolongado puede inducir efectos adversos como obesidad, alteración de la tolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia con resistencia a la insulina, dislipidemia con un aumento en el contenido de triglicéridos hepáticos, así como alteraciones histológicas, principalmente degeneración hidrópica e inflamación. No se observó aumento de los marcadores de estrés oxidativo excepto por el aumento de las actividades de GR y GPx, con reducción de la actividad SOD. Esto podría explicarse por la capacidad de los

hepatocitos para iniciar cambios metabólicos capaces de neutralizar la producción excesiva de ROS durante un tratamiento prolongado con GMS.

GMS se utiliza por todo el mundo sin ningún tipo de restricción, con el fin de mejorar el sabor e inducir preferencias en ciertos alimentos. La seguridad y la toxicidad del GMS se han convertido en polémica en los últimos años. Nuestros resultados contribuyen al interés por los efectos de este aditivo alimentario que, evidentemente, produce cambios en los parámetros de la fisiología e histología hepática. La evidencia obtenida en este estudio sugiere la necesidad de establecer la ingesta diaria o un requisito de límite superior en el uso de GMS, en particular en personas condicionadas para desencadenar ciertas patologías vinculadas a desórdenes metabólicos tales como diabetes, obesidad, dislipidemia. Esta población debería ser cuidadosa con la adición de GMS a diferentes clases de alimentos.

Agradecimientos

Este trabajo se enmarcó dentro de un proyecto CAI+D, subsidiado con fondos de la Universidad Nacional del Litoral (501 201 101 00372. Res CS 205/13).

Referencias bibliográficas

1. Yamaguchi, S.; Ninomiya K. 2000. Umami and food palatability. *J. Nutr.* **130**: (4S Suppl) 921S-926S. PMID: 10736353.
2. Chaudhari, N.; Pereira, E.; Roper, S.D. 2009. Taste receptors for umami: the case for multiple receptors. *Am. J. Clin. Nutr.* **90**(3): 738S-742S. doi: 10.3945/ajcn.2009.27462H. PMID: 19571230.
3. Iwatsuki, K.; Ichikawa, R.; Uematsu, A.; Kitamura, A.; Uneyama, H.; Torii, K. 2011. Detecting sweet and umami tastes in the gastrointestinal tract. *Acta Physiol. (Oxf)*. **204**(2): 169-177. doi: 10.1111/j.1748-1716.2011.02353.x. PMID: 21883959.
4. Gill, S.S.; Pulido, O.M. 2001. Glutamate receptors in peripheral tissues, current knowledge, future research, and implications for toxicology. *Toxicol. Pathol.* **29**(2): 208-223. PMID: 11421488.
5. Hinoi, E.; Takeda, T.; Ueshima, T.; Tsuchihashi, Y.; Yoneda, Y. 2004. Glutamate signaling in peripheral tissues. *Eur. J. Biochem.* **271**(1): 1-13. PMID: 14686914.
6. Julio-Pieper, M.; Flor, P.J.; Timothy, G.; Dinan, T.G.; Cryan, J.F. 2011. Exciting Times beyond the Brain: Metabotropic Glutamate Receptors in Peripheral and Non-Neural Tissues. *Pharmacol. Rev.* **63**(1): 35-58. doi: 10.1124/pr.110.004036. PMID: 21228260.
7. Li, X.; Staszewski, L.; Xu, H.; Durick, K.; Zoller, M.; Adler, E. 2002. Human receptors for sweet and umami taste. *Proc Natl Acad Sci U.S. A.* **99**(7): 4692-4696. doi:10.1073/pnas.072090199. PMID: 11917125.
8. San Gabriel, A.; Uneyama, H.; Yoshie, S.; Torii, K. 2005. Cloning and characterization of a novel mGluR1 variant from vallate papillae that functions as a receptor for L-glutamate stimuli. *Chem. Senses.* **30** Suppl 1:125-126. doi: 10.1093/chemse/bjh095. PMID: 15738140.
9. Kondoh, T.; Mallick, H.N.; Torii, K. 2009. Activation of the gut-brain axis by dietary glutamate and physiologic significance in energy homeostasis. *Am. J. Clin. Nutr.* **90**(3):832S-837S. doi: 10.3945/ajcn.2009.27462V. PMID: 19587084.
10. Akiba, Y.; Kaunitz, J.D. 2009. Luminal chemosensing and upper gastrointestinal mucosal defenses. *Am. J. Clin. Nutr.* **90**(3): 826S-831S. doi:10.3945/ajcn.2009.27462U. PMID: 19571224.
11. Nijijima, A. 2000. Reflex effects of oral, gastrointestinal and hepatoportal glutamate sensors on vagal nerve activity. *J. Nutr.* **130**(4S Suppl): 971S-973S. PMID: 10736363.
12. Kokrashvili, Z.; Mosinger, B.; Margolskee, R.F.

2009. Taste signaling elements expressed in gut enteroendocrine cells regulate nutrient-responsive secretion of gut hormones. *Am. J. Clin. Nutr.* **90**(3): 822S–825S. doi: 10.3945/ajcn.2009.27462T.
- 13.** San Gabriel, A.; Maekawa, T.; Uneyama, H.; Yoshie, S.; Torii, K. 2007. mGluR1 in the fundic glands of rat stomach. *FEBS Lett.* **20**; **581**(6): 1119-1123. doi: 10.1016/j.febslet.2007.02.016. PMID: 17331504.
- 14.** Uematsu, A.; Tsurugizawa, T.; Kondoh, T.; Torii, K. 2009. Conditioned flavor preference learning by intragastric administration of L-glutamate in rats. *Neuroscience Letters.* **451**(3): 190-193. doi: 10.1016/j.neulet.2008.12.054. PMID: 19146916
- 15.** Ackroff, K.; Sclafani, A. 2011. Flavor preferences conditioned by post-oral infusion of monosodium glutamate in rats. *Physiol. Behav.* **104**(3): 488-494. doi: 10.1016/j.physbeh.2011.05.013. PMID: 21605576.
- 16.** Bellisle, F. 2008. Experimental studies of food choices and palatability responses in European subjects exposed to the Umami taste. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **17** Suppl 1: 376-379. PMID: 18296383.
- 17.** Beyreuther, K.; Biesalski, H.K.; Fernstrom, J.D.; Grimm, P.; Hammes, W.P.; Heinemann, U.; Kempfski, O.; Stehle, P.; Steinhart, H.; Walker, R. 2007. Consensus meeting: monosodium glutamate - an update. *Eur. J. Clin. Nutr.* **61**(3): 304-313. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602526. PMID: 16957679.
- 18.** Ashry, M.A.; Hala Abd-Allah, F.; Gheth, E.M.M. 2012. The Possible Ameliorative Effect of Propolis in Rat's Liver Treated with Monosodium Glutamate (MSG). *Nature and Science.* **10**(12): 209-219.
- 19.** Tawfik, M.S.; Al-Badr, N. 2012. Adverse Effects of Monosodium Glutamate on Liver and Kidney Functions in Adult Rats and Potential Protective Effect of Vitamins C and E. *Food and Nutrition Sciences.* **3** (5) 651-659. doi: 10.4236/fns.2012.35089.
- 20.** Yeomans, M.R.; Gould, N.J.; Mobini, S.; Prescott, J. 2008. Acquired flavor acceptance and intake facilitated by monosodium glutamate in humans. *Physiol. Behav.* **93**(4-5): 958-66. doi: 10.1016/j.physbeh.2007.12.009. PMID: 18279899.
- 21.** He, K.; Du, S.; Xun, P.; Sharma, S.; Wang, H.; Zhai, F.; Popkin, B. 2011. Consumption of monosodium glutamate in relation to incidence of overweight in Chinese adults: China Health and Nutrition Survey (CHNS). *Am. J. Clin. Nutr.* **93**(6): 1328-1336. doi: 10.3945/ajcn.110.008870 .PMID: 21471280
- 22.** Kondoh, T.; Mori, M.; Ono, T.; Torii, K. 2000. Mechanisms of umami taste preference and aversion in rats. *J. Nutr.* **130**(4S Suppl):966S-700S. PMID: 10736362.
- 23.** Drori, D.1976. The effect of sodium chloride ingestion on food intake and on fat deposition in male rats. *Br. J. Nutr.* **35**(2): 195-200. PMID: 1252395.
- 24.** Bernardis, L.L. 1970. Prediction of carcass fat, water and lean body mass from Lee's "nutritive ratio" in rats with hypothalamic obesity. *Experientia.* **26**(7): 789-790. PMID: 4914444.
- 25.** Hirata, A.E.; Alvarez-Rojas, F.; Carvalheira, J.B.; Carvalho, C.R.; Dolnikoff, M.S.; Abdalla Saad, M.J. 2003. Modulation of IR/PTP1B interaction and downstream signaling in insulin sensitive tissues of MSG-rats. *Life Sci.* **73**(11): 1369-1381. PMID: 12850498. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000500046>
- 26.** Matthews, D.R.; Hosker, J.P. Rudenski, A.S.; Nayler, B.A.; Treacher, D.F.; Turner, R.C. 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose insulin concentrations in man. *Diabetologia.* **28**(7): 412-419. PMID: 3899825.
- 27.** Matsuda, M.; De Fronzo, R.A. 1999. Insulin sensitivity indices obtained from oral tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care.* **22**(9):1462-1470. PMID: 10480510.

28. Laurell, S.1966. A method for routine determination of plasma triglyceride. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **18**(6):668-672. PMID: 4289575.
29. Passonneau, J .V.; Lauderdale, V.R. 1974. A comparison of three methods of glycogen measurement in tissues. *Anal. Biochem.* **60**(2): 405-412. PMID: 4844560.
30. Misra, H.; Fridovich, I.1972. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry.* **247**(10):3170-3175. PMID: 4623845.
31. Lawrence, R.A.; Burk, R.F. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun.* **71**(4): 952-958. PMID: 971321.
32. Horn, H.U.; Burns, F.H. 1974. Glutathione reductase, in Bergmeyer, H.U. ed. *Methods of Enzymatic Analysis.* Academic Press, New York. pp 875-879.
33. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Aebi, Hugo. ed. *Meth. Enzymol. Methods in Enzymology* **105**: 121-126.
34. Ohkawa, H.; Ohishi, N.; Yagi, K. 1979. Assay of lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* **95**(2): 351-358. PMID: 36810.
35. Levine, R.L.; Garland, D.; Oliver, C.N.; Amici, A.; Climent, I.; Lenz, A.G.; Ahn, B.W.; Shaltiel, R.S.; Stadtman, E.R.1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* **186**:464-478. PMID: 1978225.
36. Griffith, O.W. 1980. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal. Biochem.* **106**(1):207-212. PMID: 7416462
37. Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* **193**(1): 265-275. PMID: 14907713.
38. Burrin, D.G.; Stoll, B. 2009. Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* **90**(3): 850S-856S. doi: 10.3945/ajcn.2009.27462Y. PMID: 19587091.
39. Diniz, Y.S.; Faine, L.A.; Galhardi, C.M.; Rodrigues, H.G.; Ebaid, G.X.; Burneiko, R.C.; Cicogna, A.C.; Novelli, E.L.B. 2005. Monosodium glutamate in standard and high-fiber diets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats. *Nutrition.* **21**(6): 749-755.doi: 10.1016/j.nut.2004.10.013. PMID: 15925301.
40. Kondoh, T.; Torii, K.2008. MSG intake suppresses weight gain, fat deposition and plasma leptin levels in male Sprague-Dawley rats. *Physiol Behav.* **95**(1-2):135-144. doi: 10.1016/j.physbeh.2008.05.010. PMID: 18559279
41. Diniz, Y.S.; Fernandes, A.A.; Campos, K.E.; Mani, F.; Ribas, B.O.; Novelli, E.L. 2004. Toxicity of hypercaloric diet and monosodium glutamate: oxidative stress and metabolic shifting in hepatic tissue. *Food Chem Toxicol.* **42**(2):313-319. PMID: 14667476.
42. Hermanussen, M.; Garcia, A.P.; Sunder Voigt, M.; Salazar, V.; Tresguerres, J.A.2006. Obesity, voracity and short stature: the impact of glutamate on the regulation of appetite. *Eur J Clin Nutr.* **60**(1): 25-31. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602263.PMID: 16132059.
43. Contini, M.del C.; Millen, N.; Riera, L.; Mahieu, S. 2012. Antropometría, metabolismo y estado oxidativo en ratas hembras con obesidad inducida por glutamato monosódico oral. *FABICIB.* **16**: 47-59.
44. Inuwa, H.M.; Aina, V.O.; Baba Gabi Aimola, I.; Ja'afaru, L.2011. Determination of nephrotoxicity and hepatotoxicity of monosodium glutamate consumption. *British Journal of Pharmacology and Toxicology.* **2**(3): 148-153.
45. Maluly, H.D.B.; Areas, M.A.; Borelli, P.; Reyes, F.G.R. 2013. Evaluation of biochemical, hematological and histological parameters in non-diabetic and diabetic Wistar rats fed with monosodium glutamate. *Food and Nutrition Sciences.* **4**(1): 66-76.doi: 10.4236/fns.2013.41010

46. Bachmanov, A.A.; Inou, M.; J, H.; Murata, Y.; Tordoff, M.G.; Beauchamp, G.K. 2009. Glutamate taste and appetite in laboratory mice: physiological and genetic analyses. *Am. J. Clin. Nutr.* **90**(3): 756S-763S. doi: 10.3945/ajcn.2009.27462L. PMID: 19571213
47. Onyema, O.O.; Alisi, C.S., Ihetuge, A.P. 2012. Monosodium glutamate induces oxidative stress and affects glucose metabolism in the kidney of rats. *Int. J. Biochemistry Res. & Review.* **2**(1): 1-11. doi: 10.9734/IJBCRR/2012/827.
48. Collison, K.S.; Maqbool, Z.; Saleh, S.M.; Inglis, A.; Makhoul, N.J.; Bakheet, R.; Al-Johi, M.; Al-Rabiah, R.; Zaidi, M.Z.; Al-Mohanna, F.A. 2009. Effect of dietary monosodium glutamate on trans fat-induced nonalcoholic fatty liver disease. *J. Lipid Res.* **50**(8): 1521-1537. doi: 10.1194/jlr.M800418-JLR200. PMID: 19001666.
49. Huber, P.C.; Almeida, W.P. 2008. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. *Quim. Nova.* **31**(5): 1170-1179.
50. Yang, M.S.; Chan, H.W.; Yu, L.C. 2006. Glutathione peroxidase and glutathione reductase activities are partially responsible to determining the susceptibility of cells to oxidative stress. *Toxicology.* **226** (2-3): 126-130. doi: 10.1016/j.tox.2006.06.008. PMID: 16887253.
51. Beltowski, J.; Jamroz-Wisniewska, A.; Wójcicka, G.; Łowicka, E.; Wojtak, A. 2008. Renal antioxidant enzymes and glutathione redox status in leptin-induced hypertension. *Mol. Cell. Biochem.* **319**(1-2): 163-174. doi: 10.1007/s11010-008-9889-z. PMID: 18690414.
52. Onyema, O.O.; Farombi, E.O.; Emerole, G.O.; Ukoha, A.I.; Onyeze, G.O. 2006. Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Indian J Biochem Biophys.* **43**(1): 20-24. PMID: 16955747.
53. Ibrahim, M.A.; Buhari, G.O.; Aliyu, A.B.; Yunusa, I.; Bisalla, M. 2011. Amelioration of monosodium glutamate-induced hepatotoxicity by vitamin C. *European Journal of Scientific Research.* **60** (1): 159-165.
54. Ortiz, G.G.; Bitzer-Quintero, O.K.; Beas Zárate, C.; Rodríguez-Reynoso, S.; Larios-Arceo, F.; Velázquez-Brizuela, I.E.; Pacheco-Moisés, F.; Rosales-Corral, S.A. 2006. Monosodium glutamate-induced damage in liver and kidney: a morphological and biochemical approach. *Biomed Pharmacother.* **60**(2): 86-91. doi:10.1016/j.biopha.2005.07.012. PMID: 1648
55. Francini, F.; Castro, M.C.; Schinella, G.; García, M.E.; Maiztegui, B.; Raschia, M.A.; Gagliardino, J.J.; Massa, M.L. 2010. Changes induced by a FRD on the hepatic metabolism and the antioxidant system. *Life Sci.* **86**(25-26): 965-71. doi: 10.1016/j.lfs.2010.05.005. PMID: 20470786.
56. Kosif, R.; Yılmaz, F.; Evrendilek, G.A.; Diramali, M. 2010. Histopathological effects of Aloe barbadensis and soybean oil on rat liver. *Int. J. Morphol.* **28**(4):1101-1106
57. Nakanishi, Y.; Tsuneyama, K.; Fujimoto, M.; Salunga, T.L.; Nomoto, K.; An, J.L. Takano, Y.; Iizuka, S.; Nagata, M; Suzuki, W.; Shimada, T.; Aburada, M.; Nakano, M.; Selmi, C.; Gershwin, M.E. 2008. Monosodium glutamate (MSG): A villain and promoter of liver inflammation and dysplasia. *J Autoimmun.* **30**(1-2): 42-50. doi: 10.1016/j.jaut.2007.11.016. PMID: 18178378.8110.