

EFECTO DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO EN RATAS WISTAS

Joana Etzel Rodríguez Raudales, José Luis Méndez Cruz, José Luis Martínez Rodríguez, Roxana Guadalupe Noriega Alvarado, Claudia Araceli Reyes Estrada, Blanca Patricia Lazalde Ramos y Rosalinda Gutiérrez Hernández.

rosalinda@uaz.edu.mx

Resumen:

El Glutamato Monosódico (GMS) es utilizado como aditivo alimentario, en dosis menores de 15 o 18 mg/g de peso no se reporta toxicidad. Aquí el objetivo fue administrar GMS en rata Wistar (peso 180+/- 20 g) vía intraperitoneal, en 2 modelos agudo y subcrónico. En modelo agudo se hicieron dos grupos con dosis de 2 y 4 mg/g/día respectivamente, administrando los días 2, 4, 6, 8 y 10; y el grupo subcrónico con dosis de 150 mg/kg/día durante 8 semanas. Al término se obtuvieron muestras de hígado y riñón para lipoperoxidación y glucógeno hepático, además muestras de hígado, riñón y cerebro para análisis histopatológico. De acuerdo a los resultados obtenidos se encontró una disminución de un 13.30% y 43% en grupos agudos de 2 y 4 mg/g/día, mientras que el grupo subcrónico presentó una disminución del 39.48%. Se observó que el GMS propició daño hepático en grupo agudo (dosis de 4 mg/gr) de igual manera daño hepático en el análisis histopatológico por lo que el presente trabajo encontró que a dosis bajas también puede producir daño.

Introducción

El Glutamato Monosódico (GMS) es un aditivo comúnmente utilizado como saborizante, conservador y potenciador de sabor en alimentos procesados; debido a sus propiedades se asocia con el desarrollo de obesidad infantil (Bakalar, 2010). Se le conoce también como glutamato de sodio o GMS. Es un compuesto químico cuya fórmula molecular es $C_5H_8NNaO_4$. Las propiedades físicas son: Estado de agregación: polvo cristalino blanco; Apariencia: blanco o gris sucio; Densidad: $2.1 \cdot 10^3 \text{ kg/m}^3$ o 2.1 g/cm^3 ; Masa molar: 169.111 g/mol g/mol (Figura 1). Las propiedades químicas son: Solubilidad en agua: Muy soluble en agua. Algunos de los riesgos son: Inhalación: Irritación, exposición a largo plazo puede resultar fatal; Piel: bajo riesgo y ojos: bajo riesgo (Hoja de seguridad del GMS, CIMPA, S.A., 2013).



Figura 1. Cristales de Glutamato Monosódico. <http://naturalimentacion.blogspot.mx/2013/01/glutamato-monosodico-gms-potenciador.html>

El Glutamato Monosódico, se adiciona a muchos productos procesados para mejorar y potencializar su sabor, es semejante al ácido glutámico (un aminoácido que el cuerpo lo produce), pero el GMS que se encuentra en productos procesados procede de la caña de azúcar fermentada y está relacionada con reacciones adversas como: erupciones en la piel, picazón, urticaria, náuseas, vómitos, dolores de cabeza (migraña), asma, irregularidades cardíacas, depresión, convulsiones, inflamación, aumento de peso, dolor muscular y trastornos nerviosos.

Algunas investigaciones afirman que se han reportado casos de personas que han sufrido intoxicaciones después de disfrutar platillos de comida china con altos contenidos de GMS, se le denomina Síndrome del restaurante Chino que se caracteriza por causar irritación y prurito principalmente en al área de la cara y cuello, náusea, vómitos y diarrea (Zhou *et al*, 2012). Otros estudios realizados en animales derivan que el consumo de GMS altera los mecanismos del hambre en el cerebro pues estimula la obsesión de comer en gran medida. Estudios adicionales han intentado probar si el GMS produce obesidad (Baile y González, 2011).

La administración de glutamato monosódico (GMS) en ratas neonatas causa la destrucción de los núcleos hipotalámicos y arqueadas ventromedial, lo que conlleva que las ratas desarrollen obesidad. (Jovanovic y Yeo, 2010) Una sola dosis durante el período neonatal el GMS provocó una reducción de dopamina hipotalámica. (Wu *et al.*, 2013) Hay estudios que demuestran que la

exposición crónica de la glándula adrenal a altos niveles séricos de leptina (Von, Neubarth y Maciel, 2006) se encuentra relacionada con el aumento de peso en ratas tratadas con GMS, esto se debe a la pérdida del efecto regulador inhibitor que ejerce la leptina sobre la glándula adrenal (Konrad et al., 2012). GMS se puede administrar por vía subcutánea o intraperitoneal en dosis que pueden variar de 2 a 4 mg/g de peso corporal de la rata durante el período neonatal y por períodos que van de 4-10 dosis para provocar obesidad. (de Souza et al., 2003) El glutamato monosódico (GMS) es uno de los análogos glutamatérgicos de amplio espectro (activa a todos los receptores glutamatérgicos).

El GMS se utiliza en alimentos de consumo frecuente y provoca una alteración en los umbrales de saciedad al interferir en la hormona leptina, la cual está implicada en el control del apetito provocando la señal de saciedad. Así aumenta el apetito y las cantidades consumidas de alimentos con el glutamato, de manera que al mantenerse un consumo elevado de estos productos a lo largo del tiempo puede aumentar el Índice de Masa Corporal (IMC), pudiendo resultar en obesidad y otros trastornos de la conducta alimentaria (TCA). En estudios con animales, la inyección de GMS en especies de ratas y ratones con obesidad provocó, además de un aumento de peso hasta obesidad mórbida, un aumento de los niveles de insulina hasta tres veces más (Erb JE, and Erb; 2003).

La obesidad se relaciona con numerosas patologías, entre las que se encuentran las de tipo endócrino como es el caso del hiperinsulinismo (López *et al.*, 2012), resistencia a la insulina (Spencer, 2011), diabetes tipo II, tolerancia a la glucosa e irregularidad menstrual (de Souza *et al.*, 2011), algunos tipos de cánceres (Sobko *et al.*, 2011), patologías cardiovasculares (hipertensión arterial e infarto agudo al miocardio) (Shehzad *et al.*, 2012), de salud mental (depresión y baja autoestima) (Seyed *et al.*, 2011), entre otras. (Agrawal *et al.*, 2010). También está relacionada con alteraciones ambientales (Hernández, 2013) y genéticas (Valladarez *et al.*, 2014) asociadas al sedentarismo (Reuter., 2007) y adicciones (tabaquismo). (Almeida *et al.*, 2011). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el sobrepeso y obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud.

Objetivo

Evaluar el efecto del Glutamato monosódico en modelo murino agudo y subcrónico mediante las dosis reportadas para la inducción de modelos de obesidad.

Material y método:

En este trabajo se utilizaron ratas Wistar de peso entre 180 y 200 gramos, con una edad de 16 semanas, que fueron mantenidas en condiciones estándar de bioterio, con una alimentación a base de dieta balanceada con nutricubo para roedores (HarlanTeklad Global Diets) y agua potable *ad libitum*, manteniendo la temperatura ambiente controlada con ciclos luz/oscuridad de 12/12 h. Las ratas fueron alojadas bajo las condiciones establecidas por la "Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio" del Consejo Mexicano para el Cuidado de Animales y la Norma Oficial Mexicana, NOM-062-ZOO-1999, aprobados por el Comité Interno de Cuidado Animal (UAZ). La disposición de los animales, posterior a su muestreo, se realizó mediante lo establecido en la NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, de Protección ambiental, Salud ambiental y manejo de Residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI).

Se realizaron pruebas piloto para poder encontrar el medio en el cual se pudiera disolver el GMS siendo agua destilada el disolvente de elección debido a su alto grado de solubilidad en agua, la concentración fue de 1g/mL. Se utilizaron ratas macho las cuales fueron pesadas para poder realizar la administración del GMS. La experimentación fue dividida en los siguientes grupos: Grupo control de vehículo mediante la administración con agua destilada, Grupo subcrónico mediante la administración con GMS donde se administró el preparado de GMS vía intraperitoneal a dosis de 150 mg/kg de peso por día durante un periodo de 8 semanas. Grupo agudo a dosis de 2 mg/g de peso por día mediante la administración vía intraperitoneal los días 2, 4, 6, 8 y 10 después de la entrega de los animales. Grupo agudo a dosis de 4 mg/g de peso por día mediante la administración vía intraperitoneal los días 2, 4, 6, 8 y 10 después de la entrega de los animales. Se utilizó una n de 5 ± 1 y al término del periodo de administración se procedió al sacrificio de los animales y se extrajo hígado, riñón y cerebro para su análisis histológico con tinciones simples y especiales; se realizó análisis bioquímico mediante la técnica de glucógeno hepático, el cual se determinó por el método de antrona.

Técnica de glucógeno hepático

Se hidrolizó 0.5 g de hígado con 1.5mL de KOH al 30% a ebullición por 30 minutos (el glucógeno se libera del hígado, por calentamiento con la base fuerte hasta la destrucción total del tejido). Después se mezcló cuidadosamente 30 μ L de hidrolizado del tejido con 270 μ L de agua destilada (dilución 1:250). De la dilución anterior se tomaron 24 μ L y se agregaron a un tubo con 976 μ L de agua destilada y se mezclaron, dicho tubo se mantuvo sobre un baño de hielo y se adicionaron 2 mL de antrona(200 mg/100 mL de ácido sulfúrico concentrado) y se agitó perfectamente con precaución hasta que tomó una apariencia amarilla-transparente. Se colocaron los tubos problema (dilución del hidrolizado), blanco (1 mL de agua) y patrón (20 μ g/mL de glucosa) en un baño de agua hirviendo durante 10 min tapado con una perla de vidrio. Transcurrido el tiempo, se sacaron los tubos del baño y se dejaron enfriar sobre baño de hielo por 5 min, para posteriormente leer en el espectrofotómetro a 620 nm contra el blanco de reactivos.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos arrojados en cada etapa del proyecto, se utilizó análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de rangos múltiples (prueba de Bonferroni) mediante el paquete estadístico Statgraphics Centurion para Windows XP.

Hipótesis

La intoxicación aguda y subcrónica con Glutamato Mónosódico produce hepatotoxicidad y neurotoxicidad.

Resultados

En la investigación toxicológica del GMS observamos los resultados del análisis histológico determinado por un daño considerable en la arquitectura celular del hígado y en donde se muestran las histologías más representativas de cerebro, hígado y riñón. En el modelo subcrónico se observan numerosas vacuolas intracitoplasmáticas por lo que existe un ligero daño.

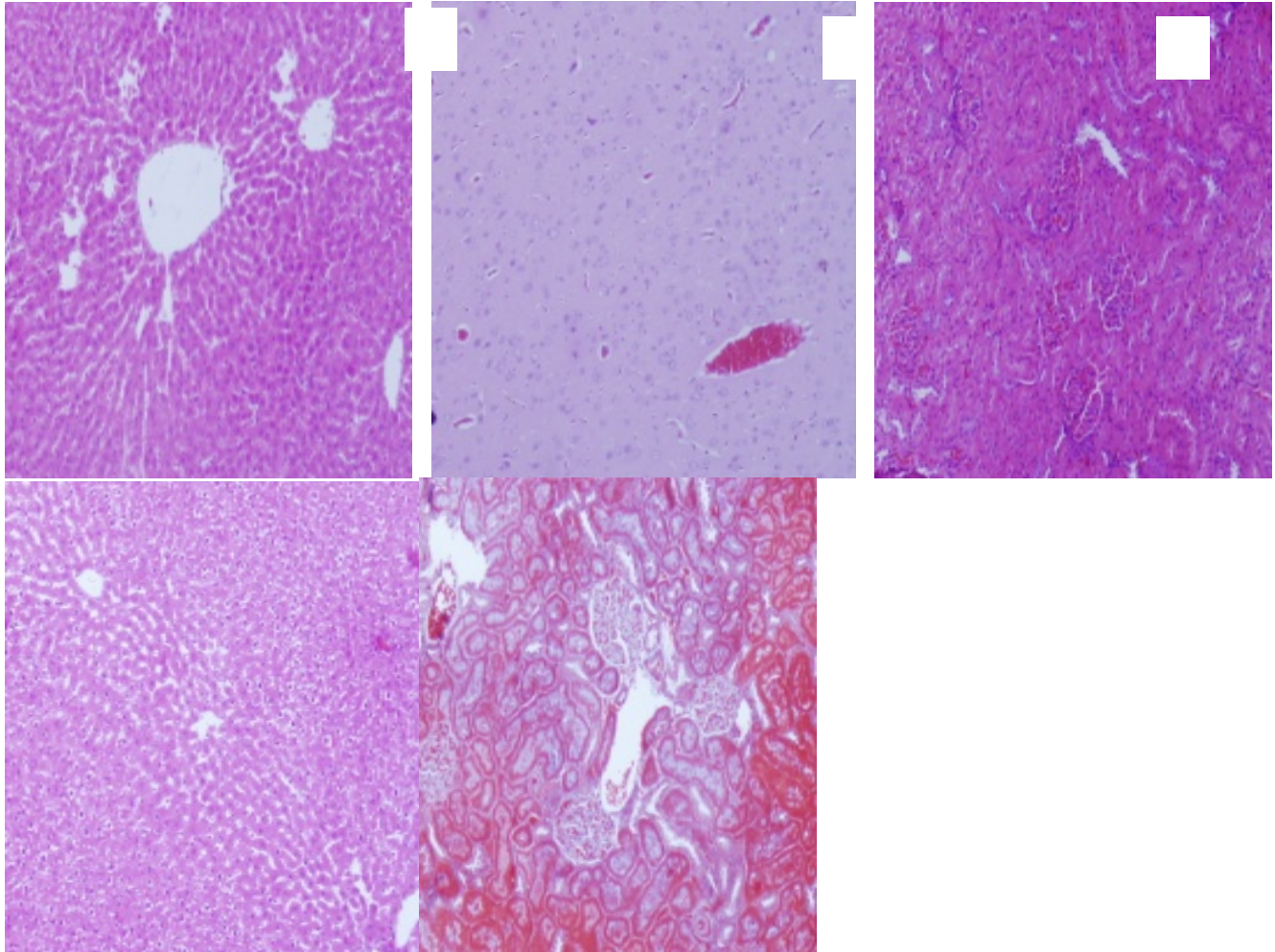


Figura 1. Histología de los órganos de ratas en intoxicación subcrónica. Panel A: Cerebro control (H.E. 10X), Panel B: Hígado control (H.E.. 10X), Panel C: Riñón control (H.E. 10X),. Panel D: Cerebro (H.E. 10X), Panel E: Hígado (H.E.. 10X), Panel F: Riñón (T.M. 10X)

Los resultados correspondientes al modelo agudo presentan daño en la arquitectura de corte histológico de hígado en dosis de 4 mg/g/día se observa una disminución en la luz de la vena porta y gran cantidad de vacuolas intracitoplasmáticas; mientras que en las histologías referentes a riñón, se muestra ligera fibrosis que se alcanza a distinguir gracias a la tinción especial de Tricrómico de Masson (T.M.)

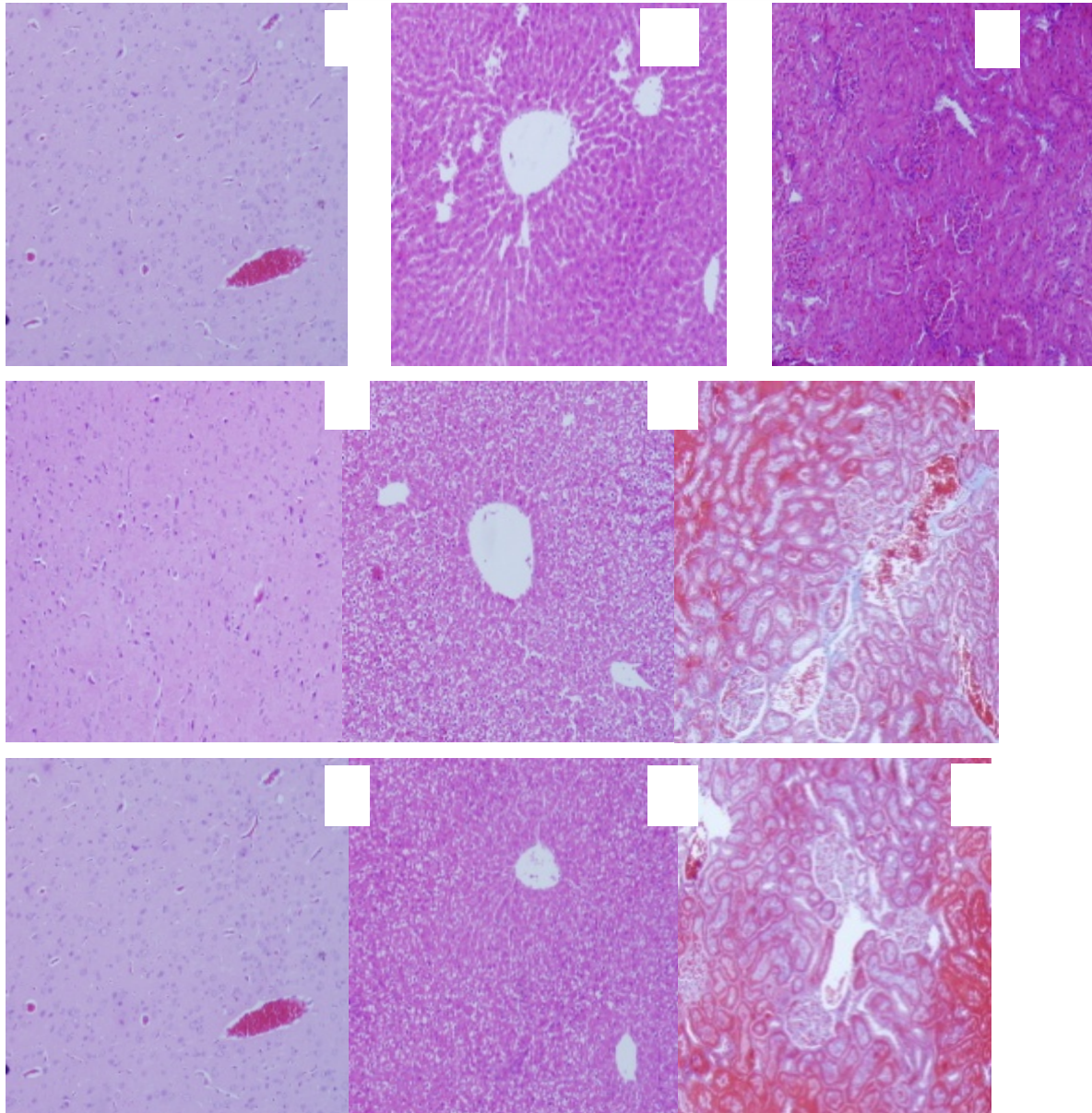


Figura 2. Histología de los órganos de ratas en intoxicación aguda. Panel A: Cerebro control(H.E. 10X), Panel B: Hígado control (H.E.. 10X), Panel C: Riñón control (H.E. 10X), Panel D: Cerebro a dosis de 2 mg/g (H.E. 10X), Panel E: Hígado a dosis de 2 mg/g (H.E. 10X), Panel F: Riñón a dosis de 2 mg/g(T.C. 10X), Panel G: Cerebro a dosis de 4 mg/g (H.E. 10X), Panel H: Hígado a dosis de 4 mg/g (H.E.. 10X), Panel I: Riñón a dosis de 4 mg/g(T.C. 10X).

En los resultados obtenido del análisis bioquímico podemos observar en el modelo subcrónico una disminución del glucógeno hepático; mostrando que el grupo control tiene 15.8052 μg por cada gramo de hígado observando una disminución de un 39.48%. Mientras que en el modelo agudo hay una disminución del glucógeno hepático con respecto al grupo control; mostrando que el grupo

control tiene 15.8052 μg por cada gramo de hígado observando una disminución de un 13.30% y un 43% en los grupos a dosis de 2 mg/g y 4 mg/g respectivamente. Es notorio que el grupo al que se le administro una mayor dosis presenta una menor cantidad de glucógeno hepático mientras que el grupo al que se le administró una dosis menor no disminuye considerablemente por lo que está comprobado que existe un daño hepático pero que está estrechamente relacionado con la dosis administrada.

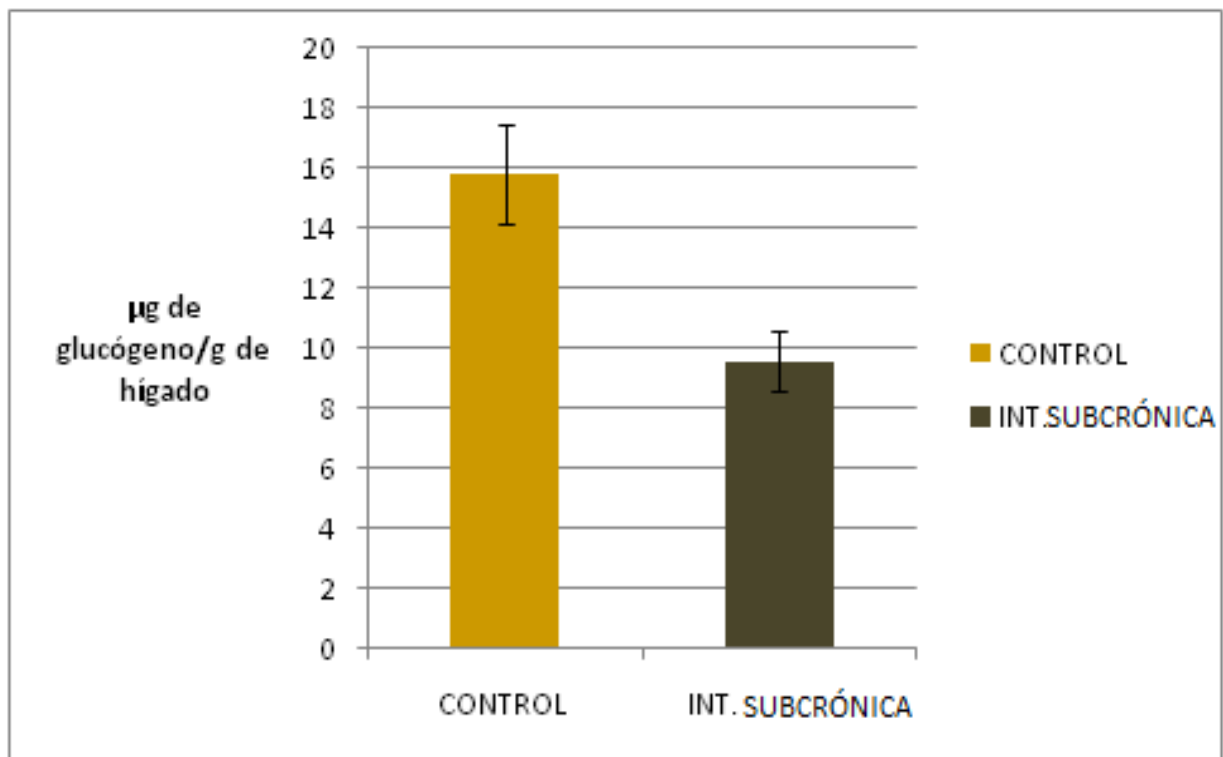


Tabla 1. Resultados de glucógeno en el modelo subcrónico en unidades de μg de glucógeno por cada gramo de hígado. Se observó una disminución conforme se administraba el glutamato monosódico a dosis de 150 mg/kg.

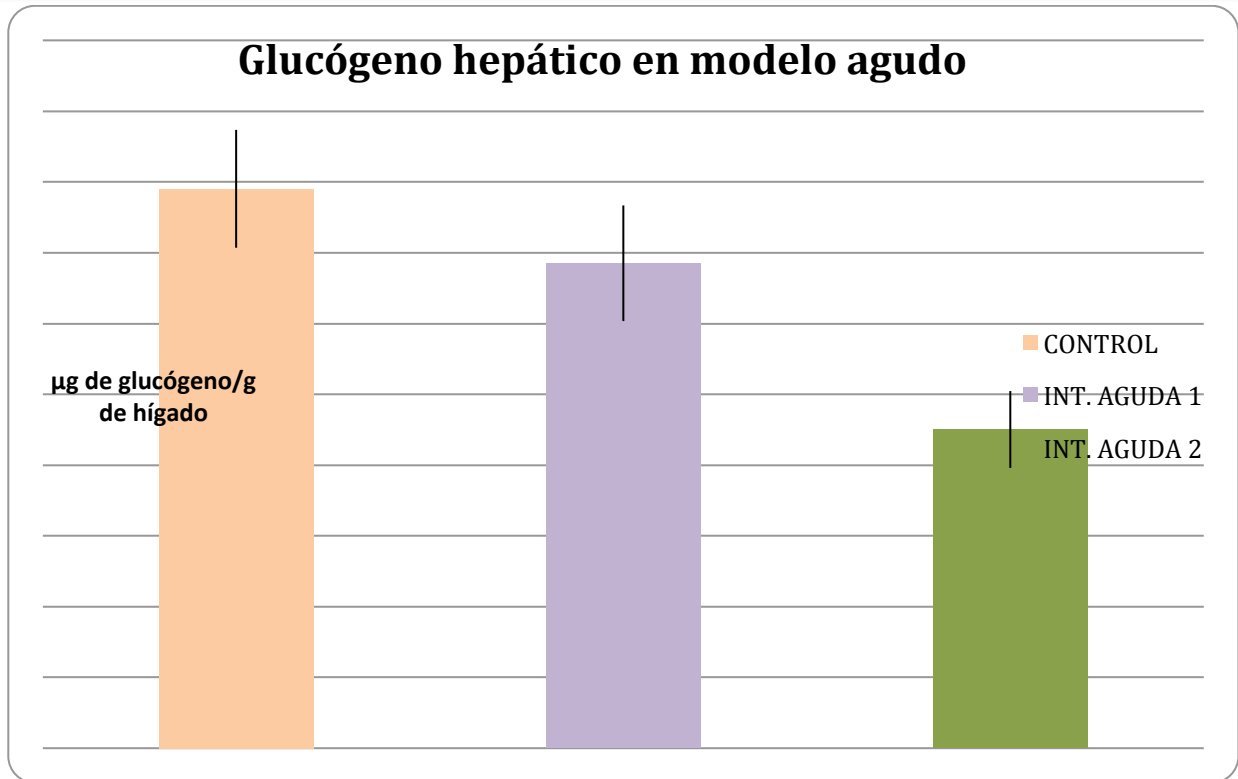


Tabla 2. Resultados de glucógeno en el modelo agudo en unidades de μg de glucógeno por cada gramo de hígado. Se observó una disminución conforme aumentaba la cantidad de glutamato monosódico administrada a dosis de 2 mg/g y 4mg/g respectivamente. Las barras representan el promedio de valores \pm error estándar. * $p < 0.05$ con respecto al control. $n = 5 \pm 1$

Conclusiones:

El GMS ha llamado mucho la atención de los investigadores médicos que están realizando estudios sobre la obesidad. Estos estudios hechos en ratas necesitaban por supuesto ratas obesas y esto se logró fácilmente alimentándolas con GMS. La cantidad de GMS que reciben tiene que ser parecida a la que se pone en los alimentos, debido a que mayor cantidad es tóxica y en grandes cantidades es mortal, en la presente investigación se demostró que no solamente es probable que cause daño a nivel cerebral sino a nivel metabólico en hígado y a riñón, por lo que se compararon los resultados obtenidos con artículos recientes obteniendo resultados favorables. Algunos de los estudios realizados revelan que los hígados de ratas GMS obesos presentan un alto contenido total de lípidos.

El Glutamato monosódico es uno de los compuestos que comúnmente utilizamos pero en el presente trabajo se demuestra que consumiendo dicho compuesto directamente a través de la comida chatarra puede ocasionar alteraciones a nivel metabólico relacionándolo con un cuadro de obesidad lo cual puede ser un desencadenante de otro tipo de patologías relacionadas. Como se pudo observar tanto en el modelo agudo como en el modelo crónico existe un daño substancial en hígado y riñón el cual va acrecentando conforme aumenta el tiempo y la dosis pudiendo suponer que es lo que comúnmente sucede con el ser humano. Se puede resaltar la importancia de los indicadores metabólicos tales como la determinación de glucógeno hepático con lo que obtuvimos una disminución estadísticamente significativa esto debido a que el hígado es el órgano principal donde se ejecutan reacciones metabólicas tales como el almacenamiento de glucosa en forma de glucógeno (gluconeogénesis), que al haber cualquier tipo de alteración se ve modificado tal indicador.

Bibliografía:

Agrawal A, Mabalirajan U, Ahmad T, Ghosh B. Emerging Interface Between Metabolic Syndrome And Asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2010

Almeida V.C., Zanetti M.L., Ameida P.C., y Damasceno M. M. Ocupación y factores de riesgo para diabetes tipo 2: un estudio en trabajadores de enfermería. *Rev. Latino-Am. Enfermagem* [online]. 2011, vol.19, n.3, pp. 476-484. ISSN 0104-1169.

Baile J.I. y González M.J.. Comorbilidad psicopatológica en obesidad. *Anales Sis San Navarra* [online]. 2011, vol.34, n.2, pp. 253-261. ISSN 1137-6627.

de Souza CT, Nunes W.M., Gobatto C.A., de Mello M.A. Insulin secretion in monosodium glutamate (MSG) obese rats submitted to aerobic exercise training. *Physiol Chem Phys Med NMR*. 2003;35(1):43-53.

de Souza CT, Nunes W.M., Gobatto C.A., de Mello M.A. Insulin secretion in monosodium glutamate (MSG) obese rats submitted to aerobic exercise training. *Physiol Chem Phys Med NMR*. 2003;35(1):43-53.

Erb JE, Erb TM. *The slow poisoning of America*. Virginia: Paladins Press;2003.2

Gracia A. M. La obesidad como enfermedad, la obesidad como problema social. *Gaceta Médica de México*. 2010;146:389-96

Hernández F.R. Genoma y ambiente en la génesis de la obesidad. *Rev Cubana Genet Comunit.* 2013;7(1):5-11

Jovanovic Z y Yeo G.S. Central leptin signalling: Beyond the arcuate nucleus *Auton Neurosci.* 2010 Aug 25;156(1-2):8-14.

Konrad S.P., Farah V., Rodrigues B., Wichi R.B., Machado U.F., Lopes H.F. Monosodium Glutamate neonatal treatment induces cardiovascular autonomic function changes in rodents. *Clinics(Sao Paulo).* 2012 ; 67 (10): 1209-14.

Konrad S.P., Farah V., Rodrigues B., Wichi R.B., Machado U.F., Lopes H.F. Monosodium Glutamate neonatal treatment induces cardiovascular autonomic function changes in rodents. *Clinics(Sao Paulo).* 2012 ; 67 (10): 1209-14.

López R.L., Hernández M. I., Pascacio S. H., Gordillo M.K., Nazik C. G., Melina R. Correlación entre insulino-resistencia e hiperandrogenismo. *Ginecol Obstet Mex* 2012;80(1):30-35

Reuter T.Y., Diet-induced models for obesity and type 2 diabetes. *Drug Discovery Today: Disease Models. Metabolic disorders.* 2007, 4(1): 1-8

Sbarbati A, Accorsi D, Benati D, Marchetti L, Orsini G, Rigotti G, Panettiere P (2010). Subcutaneous adipose tissue classification. *European Journal of Histochemistry*; volume 54: Pp48

Schaffer E.J. y Moley H. K. Diet-Induced Obesity Model: Abnormal Oocytes and Persistent Growth Abnormalities in the Offspring. *Endocrinology*, September 2010, 151(9):4039–4046

Serret M. J., Hernández C. A.; Mendoza R. O. y Cardenas N. R. Alteraciones menstruales en adolescentes. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* [online]. 2012, vol.69, n.1, pp. 63-76. ISSN 1665-1146.

Szer, G., Kovalskys I. y De Gregorio, M.J. Prevalencia de sobrepeso, obesidad y su relación con hipertensión arterial y centralización del tejido adiposo en escolares. *Arch. argent. pediatr.* [online]. 2010, vol.108, n.6, pp. 492-498. ISSN 0325-0075.

Valladares S. A., Suárez S. F., Burguete G. A., Cruza M. Epigenética de la obesidad infantil y de la diabetes. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2014; 52(Supl 1):S88-S93

Von Diemen. V. et al. Experimental model to induce obesity in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 2006, Vol 21 (6): 425-429.

Von V., Neubarth T., Maciel T. Experimental model to induce obesity in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira - Vol 21 (6) 2006 – 425.*

Wu X, Cie CY, Yin Y, Deng ZY. The results of some studies involving animal models of obesity induced by monosodium glutamate are not conclusive. *Eur J Clin Nutr.* 2013 ; 67 (2): 228.