



## Indicadores metabólicos y de estrés oxidativo en ratas con obesidad inducida con glutamato monosódico

Metabolic and oxidative stress markers  
in rats with monosodium glutamate-induced obesity

[Gipsis Suárez Román<sup>1\\*</sup>](#) / [Catherina Capote Guitián<sup>1</sup>](#) / [Tatiana Acosta Sánchez<sup>2</sup>](#)  
[Tammy Fernández Romero<sup>1</sup>](#) / [Sonia Clapés Hernández<sup>1</sup>](#)

<sup>1</sup>Universidad de Ciencias Médicas de La Habana, Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón", Departamento de Bioquímica. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Centro Nacional de Genética Médica, Departamento Genética Bioquímica. La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [gsuarez@infomed.sld.cu](mailto:gsuarez@infomed.sld.cu)

Recibido: 20/08/2020. Aprobado: 15/03/2021

### Cómo citar este artículo

Suárez Román G, Capote Guitián C, Acosta Sánchez T, Fernández Romero T, Clapés Hernández S. Indicadores metabólicos y de estrés oxidativo en ratas con obesidad inducida con glutamato monosódico. Rev haban cienc méd [Internet]. 2021 [citado 20(4):e3642]. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/3642>

### RESUMEN

**Introducción:** La obesidad, especialmente la visceral, constituye un factor de riesgo principal para múltiples enfermedades tales como: diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, dislipidemias, enfermedad por hígado graso no alcohólico y cáncer. Se plantea que el estrés oxidativo podría ser el factor causal común de las comorbilidades asociadas a la obesidad.

**Objetivo:** Evaluar el balance prooxidante/antioxidante en ratas con obesidad inducida con glutamato monosódico.

**Material y Métodos:** Ratas Wistar hembras recibieron glutamato monosódico (4 mg/g de peso corporal) para inducir obesidad o NaCl 0,9 % (Controles) subcutáneamente en período neonatal. A los 90 días, se confirmó la obesidad. Se les practicó eutanasia a los 180 días para la obtención de sangre e hígado para la determinación de marcadores bioquímicos.

**Resultados:** Las ratas obesas presentaron niveles incrementados de TAG, AU, insulina e índices HOMA y TyG. Se constataron mayores concentraciones de nitratos y nitritos, productos avanzados de la oxidación de proteínas y productos de oxidación de la 2-desoxirribosa en el ADN en las ratas obesas.

**Conclusiones:** Se concluye que la obesidad inducida con glutamato monosódico reproduce las principales alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad visceral humana, dentro de las que se incluye el estrés oxidativo. Este modelo podría ser útil en la evaluación de estrategias terapéuticas para prevenir o disminuir complicaciones asociadas a la obesidad.

### Palabras Claves:

Obesidad, glutamato monosódico, estrés oxidativo, hiperlipemia.

### ABSTRACT

**Introduction:** Obesity, especially visceral, is a major risk factor for several diseases such as Type 2 diabetes mellitus, cardiovascular diseases, atherosclerosis, dyslipidemia, non-alcoholic fatty liver disease, and cancer. Oxidative stress may be a unifying mechanism for the development of major obesity-related comorbidities.

**Objective:** To evaluate the prooxidant-antioxidant balance in monosodium glutamate-induced obesity in Wistar rats (MSG- obese rats).

**Material and Methods:** Female Wistar rats received subcutaneous (sc) injections of monosodium glutamate solution (4 mg/g of body weight) or vehicle (NaCl 0,9 %; control) to induce obesity during the neonatal period. At 90 days of life, obesity was determined. At 180 days of life, rats were anesthetized and killed to obtain blood and liver samples for the determination of biochemical markers.

**Results:** MSG obese rats presented significantly higher triglycerides, uric acid and insulin levels, as well as elevated HOMA and TyG indexes. Increased concentrations of nitrate and nitrite, 2-deoxyribose oxidation products and advanced oxidation protein products levels were observed in obese rats.

**Conclusions:** Obesity induced by monosodium glutamate reproduces the main metabolic alterations associated with human visceral obesity, among which oxidative stress is included. This model may be useful for the evaluation of therapeutic strategies to prevent or decrease complications associated with obesity.

### Keywords:

Obesity, monosodium glutamate, oxidative stress, hyperlipemia.



## INTRODUCCIÓN

La obesidad constituye uno de los principales problemas de salud al nivel mundial, considerándose como una pandemia. Se ha estimado que el sobrepeso y la obesidad causan 3,4 millones de muertes, 3,9 % de años de vida potencial perdidos y 3,8 % de discapacidad ajustada a los años de vida. En 2013, la proporción de adultos con  $IMC \geq 25$  Kg/m<sup>2</sup> era de 38 % en mujeres y de 36,9 % en hombres.<sup>(1)</sup> Cuba no está exenta de esta problemática.

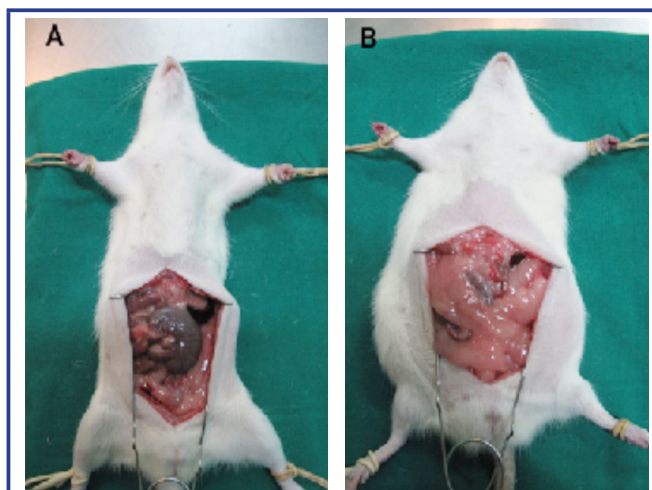
Según la III Encuesta Nacional de Factores de Riesgo, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población total fue de 29,8 % y 13,7 % respectivamente, mientras que la obesidad extrema o mórbida fue de 1,3 %.<sup>(2)</sup>

La obesidad, especialmente la obesidad visceral, constituye un factor de riesgo principal para varias enfermedades, tales como diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, dislipidemias, enfermedad por hígado graso no alcohólico y cáncer.<sup>(3,4,5)</sup> Se plantea que el estrés oxidativo podría ser el mecanismo subyacente común causante de la comorbilidad asociada a la obesidad.<sup>(5)</sup>

El estrés oxidativo se define como un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO) y las defensas antioxidantes de células y tejidos. La excesiva generación de ERO produce daño oxidativo a proteínas, lípidos y ácidos nucleicos y conduce a disfunción celular. La medición de las oxidaciones de estas biomoléculas sirve como marcador de estrés oxidativo.<sup>(3,5)</sup> La concentración de algunas moléculas y la actividad de enzimas antioxidantes son medidas para evaluar la capacidad antioxidante, cuya disminución se ha constatado en la obesidad.<sup>(3)</sup>

La obesidad inducida con glutamato monosódico (GMS) constituye un modelo de obesidad visceral.<sup>(6)</sup> La administración de GMS en los roedores produce muerte neuronal al nivel del núcleo arqueado hipotalámico. Como consecuencia de esto se pierde el control de la homeostasis energética y aparece disfunción del eje hipotálamo-pituitario-adrenal. Los animales desarrollan un síndrome neuroendocrino-metabólico caracterizado por hiperadiposidad central (**Fig. 1**), resistencia a la insulina y a la leptina, hipofagia o normofagia, incremento en concentraciones séricas de glucocorticoides, hipoactividad, reducción del peso de órganos, retardo del crecimiento, masa muscular disminuida, acortamiento de la longitud de los huesos y alteración de la función reproductiva.<sup>(6)</sup>

También experimentan alteraciones metabólicas que se describen en la obesidad humana, tales como resistencia a la insulina y a la leptina, intolerancia a la glucosa, alteraciones del metabolismo lipídico y acumulación ectópica de lípidos.<sup>(6)</sup> No se tiene referencia de muchos estudios en los que se haya explorado el estado redox con este modelo de obesidad. Es por eso que el **objetivo** de este trabajo es evaluar el balance prooxidante/antioxidante en ratas con obesidad inducida con glutamato monosódico.



**Fig. 1** - Fenotipo característico de la obesidad inducida con glutamato monosódico

A: Rata control. B: Rata con obesidad inducida por glutamato monosódico. Nótese la hiperadiposidad central en B.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Inducción de Obesidad:

Ratas Wistar hembras recién nacidas fueron divididas en dos grupos: ratas a las que se les administró glutamato monosódico (Sigma-Aldrich, 4 mg/g de peso corporal), por vía subcutánea (sc), los días 2, 4, 6, 8 y 10 de vida (OBS, n=16) y ratas que recibieron NaCl 0,9 %, sc, en los mismos días de vida (CON, n=16).<sup>(6)</sup>

Los animales se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura ( $22 \pm 3^\circ\text{C}$ ), luz (ciclos de 12h luz/oscuridad) y humedad relativa ( $60 \pm 5$  %).<sup>(7)</sup> A los 21 días fueron destetados y colocados 4 ó 5 animales por caja hasta los 90 días en que fueron ubicados en cajas independientes. Se les suministró agua y alimento (pienso granulado, Fórmula CMC 1000 producida por CENPALAB) a libre demanda durante todo el experimento.

A los 90 y 150 días de vida fue estimado el índice de Lee, mediante la raíz cúbica del peso corporal (g) dividido entre la longitud corporal (LC) (cm) como indicador de obesidad.<sup>(8)</sup> Se practicó eutanasia a los animales a los 180 días, por punción de la vena cava inferior y desangrado bajo anestesia con tiopental sódico (50-60 mg/kg).<sup>(9)</sup>

Muestras de sangre total de cada rata fueron colectadas en tubos con EDTA (ácido etilendiamino tetracético), mantenidas a baja temperatura por 30 minutos (min) y centrifugadas a 3000 rpm, durante 15 min a  $4^\circ\text{C}$ . El plasma obtenido fue almacenado a  $-20^\circ\text{C}$  para determinaciones bioquímicas. Un fragmento de hígado fue extirpado y almacenado a  $-80^\circ\text{C}$  para extracción de ADN celular. Se llevó a cabo la disección del tejido adiposo visceral de la región abdominal (perirrenal, perimesentérico y periovárico). Este fue pesado mediante balanza digital Gibertini con sensibilidad 0,01 g.

**Variables metabólicas:** La glucosa, los triacilglicérols (TAG), el colesterol total y el ácido úrico (juegos diagnósticos HELFAS, La Habana, Cuba) fueron medidos enzimáticamente. La concentración plasmática de insulina fue estimada por radioinmunoensayo.<sup>(10)</sup> La resistencia a la insulina fue determinada mediante el modelo homeostático de Mathews (HOMA-IR) (insulina en ayunas  $\mu\text{UI/ml}$  x glucosa en ayunas  $\text{mmol/l}$ )/22,5)<sup>(11,12)</sup> y mediante el índice triacilglicérols-glucosa (TyG):  $\text{Ln} [\text{triacilglicérols en ayunas (mg/dL)} \times \text{glucosa en ayunas (mg/dL)} / 2]$ .<sup>(13)</sup>

**Indicadores de estrés oxidativo:** Todos los indicadores fueron medidos mediante técnicas espectrofotométricas. La concentración de nitratos y nitritos como marcador indirecto de producción de ERO,<sup>(14)</sup> los productos avanzados de la oxidación de proteínas (PAOP) como marcador de daño oxidativo a proteínas<sup>(15)</sup> y el glutatión reducido (GSH) como indicador de capacidad antioxidante<sup>(16)</sup> fueron determinados en el plasma.

Para la determinación de productos de oxidación de la 2-desoxirribosa (POD), como marcador de daño oxidativo al ADN se homogeneizó el hígado descongelado (100 mg/600  $\mu\text{l}$  de buffer  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$  0,1 M con EDTA 0,1 mM, fenil metil sulfonil fluoruro 0,5 mM (PMSF), aprotinina 4  $\mu\text{M}$ , leupeptina 4  $\mu\text{M}$  pH 7,8) mediante homogeneizador eléctrico (HEIDOLPH) a 30 000 rpm por 1,5 min. El homogeneizado se centrifugó a 4<sup>o</sup> C y 4 400 rpm durante 20 minutos. A partir del precipitado se extrajo ADN aplicando los principios del método de Bunce.<sup>(17)</sup>

Se utilizaron el programa INFOSTAT y el paquete STATISTICA (versión 10.0). Los datos se reportan como valores de la media  $\pm$  la desviación estándar. Se empleó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para la comparación entre los grupos, debido a la no distribución normal de las variables. Las diferencias se consideraron significativas con valores de  $p < 0,05$ . Para el establecimiento de la relación entre las variables se determinó el coeficiente de correlación de Spearman (R).

Los animales fueron obtenidos del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). El Comité de Ética para la investigación de nuestra institución aprobó los protocolos usados en este estudio. El trabajo con los animales tuvo en cuenta las regulaciones o pautas establecidas para su cuidado y uso.<sup>(18)</sup>

## RESULTADOS

A los 90 días de vida, las ratas controles y las tratadas con GMS presentaron pesos similares. Sin embargo, a los 150 días el peso de las ratas obesas con GMS sobrepasaba significativamente al de los controles. Las ratas obesas mostraron una reducción de su longitud corporal con respecto al grupo control. El índice de Lee y la grasa abdominal se incrementaron significativamente en las ratas tratadas con GMS en relación con los controles. (Tabla 1).

Grupo	90 días (3 meses)			150 días (5 meses)			Grasa visceral (g)
	Peso (g)	LC (cm)	I. Lee	Peso (g)	LC (cm)	I. Lee	
CON (n=15)	251,0 $\pm$ 10,4	20,6 $\pm$ 0,3	0,306 $\pm$ 0,0	288,7 $\pm$ 14,7	21,3 $\pm$ 0,5	0,312 $\pm$ 0,0	18,9 $\pm$ 10,5
OBS (n=16)	252,8 $\pm$ 17,9	19,1 $\pm$ 0,6*	0,330 $\pm$ 0,0*	308,9 $\pm$ 27,0*	19,9 $\pm$ 0,6*	0,339 $\pm$ 0,0*	35,7 $\pm$ 9,6*

Se presenta el valor promedio  $\pm$  la desviación estándar de cada variable. OBS: ratas inyectadas con 5 dosis de GMS, los días 2, 4, 6, 8 y 10 de vida, por vía subcutánea. CON: ratas inyectadas con NaCl 0,9 % siguiendo mismo esquema que para el GMS. LC: longitud corporal. I. Lee: índice de Lee.  
\* Diferencia significativa comparado con grupo control;  $p < 0,05$  (Prueba U de Mann-Whitney).

Los niveles de glucosa y colesterol plasmáticos no mostraron diferencias significativas entre las ratas controles y obesas. La concentración de insulina, los TAG, los índices HOMA-IR y TyG, así como el ácido úrico en las ratas obesas exhibieron valores superiores a los controles, con significación estadística. (Tabla 2).

Variable	CON	OBS
Glicemia (mM)	7,3 $\pm$ 1,2	7,6 $\pm$ 2,0
Colesterol Total (mM)	1,8 $\pm$ 0,3	1,9 $\pm$ 0,5
Triacilglicérols (mM)	0,6 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,4*
Insulina ( $\mu\text{UI/ml}$ )	13,0 $\pm$ 6,7	24,9 $\pm$ 14,1*
HOMA-IR	4,2 $\pm$ 2,3	8,5 $\pm$ 5,6*
Índice TyG	8,2 $\pm$ 0,4	8,9 $\pm$ 0,5*
Ácido úrico ( $\mu\text{M}$ )	86,4 $\pm$ 30,5	123,1 $\pm$ 61,1*

Se presenta el valor promedio  $\pm$  la desviación estándar de cada variable. OBS: ratas inyectadas con 5 dosis de GMS, los días 2, 4, 6, 8 y 10 de vida, por vía subcutánea; CON: ratas inyectadas con NaCl 0,9 % siguiendo mismo esquema que para el GMS; HOMA: modelo homeostático de Mathews; TyG: triacilglicérols- glucosa.  
\* Diferencia significativa comparado con grupo control;  $p < 0,05$  (Prueba U de Mann-Whitney).

Los animales obesos presentaron mayor concentración de nitratos y nitritos, así como mayores niveles de PAOP y POD. La concentración de glutatión reducido (GSH) no mostró diferencias entre ambos grupos. (Tabla 3).

Tabla 3 - Marcadores de estrés oxidativo sistémico en ratas controles y obesas		
Variable	CON	OBS
Nitratos y Nitritos (µM)	45,1 ± 25,1	75,6 ± 16,40*
PAOP(µM)	0,11 ± 0,1	0,20 ± 0,1*
GSH (mM)	0,57 ± 0,1	0,72 ± 0,2*
POD (nmol MDA/mg de ADN)	1,3 ± 0,6	1,9 ± 0,6*

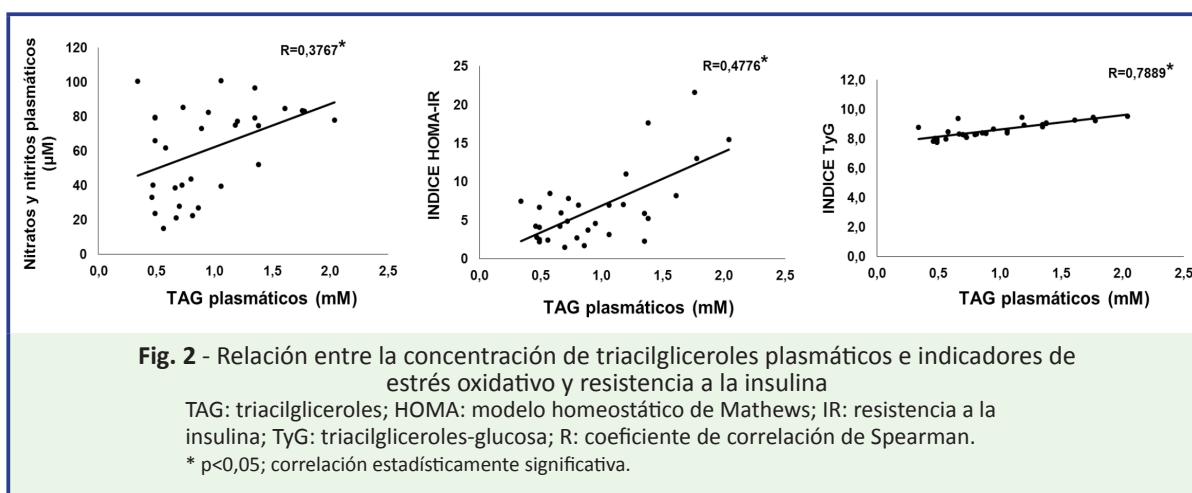
Se presenta el valor promedio ± la desviación estándar de cada variable. OBS: ratas obesas CON: ratas controles. POD: productos de la oxidación de la 2-desoxirribosa. PAOP: productos avanzados de oxidación de proteínas. GSH: glutatión reducido, MDA: malonildialdehído.  
\* Diferencia significativa comparado con grupo control; p<0,05 (Prueba U de Mann-Whitney).

El índice de Lee, estimado a los 90 días, se correlacionó positivamente con la concentración de triacilgliceroles, insulina, nitratos y nitritos, PAOP y con los índices HOMA-IR y TyG. (Tabla 4).

Tabla 4 - Relación entre el índice de Lee con variables metabólicas y marcadores de estrés oxidativo en ratas controles y obesas			
Variable	R	Variable	R
Glicemia	0,1108	Índice TyG	0,5992*
Colesterol	0,0152	Nitratos y Nitritos	0,5290*
Triacilgliceroles	0,7311*	PAOP	0,5056*
Insulina	0,5201*	GSH	0,2295
HOMA-IR	0,4763*	POD	0,3322

R: Coeficiente de correlación de Spearman. POD: productos de la oxidación de la 2-desoxirribosa.; PAOP: productos avanzados de oxidación de proteínas; GSH: glutatión reducido; HOMA: modelo homeostático de Mathews; TyG: índice triacilgliceroles-glucosa.  
\* p<0,05; correlación estadísticamente significativa.

Por otro lado, los niveles de triacilgliceroles se relacionaron proporcionalmente con los índices HOMA-IR y TyG y la concentración de nitratos y nitritos plasmáticos. (Fig 2).



## DISCUSIÓN

La disminución de la longitud corporal observada en las ratas tratadas con GMS es característico de este modelo.<sup>(6)</sup> (Tabla 1). La lesión hipotalámica se asocia a reducción en los niveles de hormona liberadora de hormona de crecimiento (GHRH) con la consiguiente baja en los niveles de esta(GH). Como consecuencia se produce acortamiento de los huesos, disminución de la masa muscular y aparece retardo en el crecimiento en estos animales.<sup>(6)</sup>

La acumulación de grasa visceral (Fig. 1 y Tabla 1) se debe, en parte, al efecto pro-adipogénico por exceso de glucocorticoides circulantes que experimentan estas ratas.<sup>(19)</sup> Los glucocorticoides inhiben la expresión

factores anti-adipogénicos como Pref-1 (factor 1 pre-adipogénico, del inglés *pre-adipocyte factor-1*) y Wnt-10b (del inglés *wingless-type MMTV integration site family, member 10b*) e inducen la expresión de factores de transcripción adipogénicos como PPAR $\gamma$  (receptor gamma activado del proliferador de peroxisomas, del inglés *peroxisome proliferator activator receptor gamma*).<sup>(19)</sup> Este receptor nuclear promueve la diferenciación de los preadipocitos en adipocitos maduros en el tejido adiposo, con lo cual se incrementa el número de estas células.

Induce la expresión de genes relacionados con la captación de ácidos grasos, la biosíntesis de ácidos grasos y de proteínas de las vesículas lipídicas donde se almacenan los triacilglicerol. La estimulación de los genes mencionados favorece el proceso de lipogénesis y, por consiguiente, el aumento de las reservas grasas, especialmente en el tejido adiposo visceral.<sup>(19,20)</sup>

Además, la exposición crónica a exceso de glucocorticoides estimula la lipogénesis, debido a sobreexpresión de lipasa de lipoproteína, disminución de la actividad de la AMPK (proteína quinasa dependiente de AMP) y de la expresión de UCP1 (proteína 1 desacopladora, del inglés *uncoupled protein 1*).<sup>(20)</sup> Estos efectos metabólicos son mediados posiblemente por activación del receptor de mineralocorticoides (MR). A su vez, se bloquea al receptor alfa de glucocorticoides (GR $\alpha$ ) impidiendo la activación de la lipólisis. Esto último se logra por aumento de la expresión del receptor beta de glucocorticoides (GR $\beta$ ), el cual es un inhibidor de GR $\alpha$ .<sup>(21)</sup>

La lipasa de lipoproteína degrada los TAG contenidos en las VLDL y quilomicrones en ácidos grasos y glicerol. Los ácidos grasos son captados por los adipocitos y re-esterificados para formar TAG dentro de estos.<sup>(22)</sup> La AMPK fosforila a la enzima reguladora de la biosíntesis de ácidos grasos Acetil CoA79 carboxilasa, bloqueando su polimerización e inactivándola. La inhibición de la AMPK favorece entonces la síntesis de ácidos grasos y de TAG.<sup>(22)</sup>

La disminución de la expresión de la UCP1 reduce la pérdida de energía en forma de calor e incrementa la deposición grasa.<sup>(20)</sup> La UCP1 disipa el gradiente de protones generado durante el transporte de electrones con lo cual se afecta la producción de ATP. Al no desacoplarse el transporte de electrones y la fosforilación oxidativa se favorece la producción de energía metabólicamente útil en forma de ATP. Cuando se incrementa la razón ATP/ADP se bloquea la activación de la AMPK por lo que se activa la biosíntesis de ácidos grasos y la lipogénesis.<sup>(22)</sup>

Una de las alteraciones metabólicas descritas en este modelo es la resistencia a la leptina.<sup>(6)</sup> Fisiológicamente, la leptina inhibe la secreción de glucocorticoides estimulada por la ACTH en las glándulas adrenales. Por lo cual, ante la resistencia adrenal a la leptina aumentan los niveles de glucocorticoides en la circulación de ratas con obesidad inducida con GMS.<sup>(6,19)</sup>

El aumento de los triacilglicerol fue constatado en las ratas obesas. (**Tabla 2**). Esto coincide con lo reportado en la literatura.<sup>(23,24,25)</sup> La llegada masiva de AGNE (ácidos grasos no esterificados) al hígado, como consecuencia del incremento de la actividad lipolítica en los adipocitos hipertrofiados de las ratas obesas con GMS, induce estrés del RE (retículo endoplásmico). El estrés del RE activa a la proteína XBP1 (del inglés, *X-box binding protein 1*) la cual estimula la expresión de PDI (proteína disulfuro isomerasa). Esta proteína (PDI) forma con MTP (proteína del RE transferidora de triacilglicerol, del inglés *microsomal triglyceride transfer protein*) un heterodímero que empaqueta triacilglicerol junto a la apolipoproteína B para formar las VLDL, una lipoproteína rica en triacilglicerol endógenos.

Como consecuencia de la activación del eje XBP1/PDI/MTP se incrementa la síntesis y exportación de VLDL hacia la circulación.<sup>(24,25)</sup> Ello conduce a incremento de los triacilglicerol en el plasma, que contribuye al acúmulo de grasa visceral que exhiben esos animales. (**Fig. 1**). El aumento de los triacilglicerol constituye, a su vez, un relevante factor inductor de estrés del RE en el hepatocito.<sup>(24)</sup>

Las ratas con obesidad inducida por GMS mostraron niveles plasmáticos de insulina superiores a los controles y resistencia a la insulina. (**Tabla 2**). La secreción de insulina es controlada directamente por los niveles de glucosa sanguínea y por el sistema nervioso autónomo. El sistema parasimpático estimula la secreción de insulina a través del receptor 3 muscarínico (M3) de la acetilcolina. En contraste, el sistema simpático disminuye la secreción de insulina.<sup>(26)</sup>

El aumento en la concentración de insulina plasmática en las ratas con obesidad inducida por GMS es debido a hipersecreción pancreática en respuesta a la concentración de glucosa sanguínea. La hipersecreción de insulina es provocada por el aumento en el número de células beta de los islotes promovido por la hiperactividad parasimpática y depresión de la acción simpática en los islotes de Langerhans. La hiperinsulinemia contribuye al desarrollo de resistencia a la insulina.<sup>(26)</sup>

Ha sido demostrado el incremento de los AGNE en la circulación de ratas con obesidad inducida con GMS.<sup>(23,24,25)</sup> Estos son obtenidos a partir fundamentalmente de los triacilglicerol. Los AGNE, especialmente los poliinsaturados de cadena larga y otros metabolitos lipídicos activan a seril/treonil proteínas kinasas, tales como isoformas no convencionales de la proteína quinasa C [PKC ( $\theta$ ,  $\epsilon$ ,  $\delta$ )], c-Jun-N-terminal Kinasa (JNK), Kinasa del inhibidor del NF- $\kappa$ B (IKK), proteína Kinasa R (PKR). Estas enzimas deprimen la señalización mediada por la insulina, y conducen a resistencia a esta hormona.<sup>(27)</sup> La correlación positiva encontrada entre los niveles de triacilglicerol y los índices HOMA y TyG apoya lo planteado. (**Fig. 2**). Tanto el aumento en los niveles de insulina como la resistencia a la insulina han sido alteraciones metabólicas encontradas en ratas obesas con GMS por otros investigadores.<sup>(24,25,28)</sup>

El estado de resistencia a la insulina también favorece la síntesis y secreción de VLDL al nivel hepático. La disminución de la vía de la fosfatidilinositol 3 quinasa conlleva a la reducción de la fosforilación del factor de transcripción FoxO1 con el consiguiente incremento en la síntesis de MTP. Por lo tanto se incrementan los niveles plasmáticos de triacilglicerol.<sup>(24)</sup>

Se constataron niveles incrementados de nitratos y nitritos, mayor daño oxidativo al ADN y a proteínas en las ratas con obesidad inducida con GMS (**Tabla 3**). Los niveles elevados de nitratos y nitritos indican producción incrementada de óxido nítrico, lo cual se acompaña de aumento en la generación de peroxinitrito, un potente oxidante, que rápidamente se descompone en radical hidroxilo, nitratos y nitritos. El óxido nítrico reacciona espontáneamente con el radical superóxido para formar peroxinitrito, el cual daña preferencialmente a las proteínas.<sup>(29)</sup>

Los resultados mencionados arriba sugieren predominio de condiciones pro-oxidantes estimuladas probablemente por la hiperlipemia en las ratas con obesidad inducida con GMS. Esta afirmación tiene su basamento en la correlación positiva hallada entre la concentración de triacilglicérols y la concentración de nitratos y nitritos un marcador de producción de ERO. (**Fig. 2**). Otros investigadores han constatado un ambiente pro-oxidantes con este modelo.<sup>(23,30,31)</sup> Lo anterior podría estar relacionado con incremento de los AGNE en la circulación, los cuales estimulan la producción de ERO en la mitocondria y en fuentes extra-mitocondriales.<sup>(3,4,5,32)</sup> A su vez, la generación incrementada de ERO agravaría el estado de resistencia a la insulina. Las ERO activan también a seril/treonil proteínas kinasas, inhibiendo la acción de la hormona.<sup>(3,5,32)</sup>

Los AGNE interactúan con componentes de los complejos I y III de la cadena transportadora de electrones y los inactivan. También producen depleción del citocromo c, con lo cual se bloquea el flujo de electrones desde el complejo III hacia el complejo IV. La fluidez de la membrana mitocondrial interna se incrementa por la incorporación de los AGNE de cadena larga, con lo cual se facilita el denominado “goteo de electrones”. Todo esto estimula la reducción del oxígeno a anión superóxido.<sup>(3,5,32)</sup>

Por otra parte, se plantea que los AGNE pudieran inactivar la regeneración de GSH, por consiguiente impiden la eliminación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hidroperóxidos y lipoperóxidos por acción de la glutatión peroxidasa.<sup>(5)</sup> Además, los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga activan al complejo de la NADPH oxidasa de membrana plasmática en diferentes tipos celulares.<sup>(3,5,32)</sup>

Las ratas obesas mostraron una concentración de ácido úrico plasmático significativamente superior que las controles (**Tabla 2**). Esto podría deberse por un lado, al incremento en la producción y secreción de ácido úrico al nivel del tejido adiposo visceral por aumento de la actividad de la enzima Xantina oxidoreductasa inducido por la hipoxia de dicho tejido. La enzima en su forma de Xantina oxidasa cataliza la conversión de hipoxantina en xantina y esta en ácido úrico, generando a su vez anión superóxido y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. El aumento de la actividad de la Xantina oxidasa estimula la producción de ERO y contribuye al estado de estrés oxidativo.<sup>(33)</sup> El aumento del ácido úrico plasmático también podría ser consecuencia del incremento en la reabsorción de urato en los túbulos proximales renales estimulado por la hiperinsulinemia.<sup>(33)</sup>

El ácido úrico a concentraciones fisiológicas actúa como un potente antioxidante. En condiciones de hiperuricemia se considera un agente prooxidante al estimular la producción de ERO a partir de fuentes no mitocondriales. El incremento del ácido úrico activa la generación de anión superóxido mediado por el complejo de la NADPH oxidasa de membrana plasmática en adipocitos, células endoteliales y musculares lisas vasculares.<sup>(34)</sup> Además la hiperuricemia favorece la acumulación de grasa visceral, la resistencia a la insulina, la inflamación y otras alteraciones asociadas a la obesidad.<sup>(33,34)</sup>

La correlación positiva encontrada entre el índice de Lee y la concentración de triacilglicérols, insulina, nitratos y nitritos, PAOP e índices HOMA-IR y TyG demuestran que estas alteraciones metabólicas son consecuencias de la obesidad. (**Tabla 4**).

## CONCLUSIONES

Basado en nuestros resultados, se concluye que la obesidad inducida por GMS reproduce las principales alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad visceral humana, tales como hipertrigliceridemia, resistencia a la insulina y estrés oxidativo sistémico inducido probablemente por la hiperlipemia. Este modelo podría ser una herramienta útil en la evaluación de estrategias terapéuticas para prevenir o disminuir la aparición de complicaciones asociadas a la obesidad visceral.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, Lee A, *et al.* Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N Engl J Med.* 2017; 377 (1): 13-27.
2. Varona Pérez P, Gámez SD, Díaz SME. Impacto del sobrepeso y obesidad en la mortalidad por enfermedades no transmisibles en Cuba. *Revista Cubana de Medicina General Integral.* 2018; 34 (3): 71-81.
3. Vibha R, Deep G, Singh RK, Palle K, Yadav U. Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sci.* 2016; 148: 183-93.
4. Tchernof A, Després JP. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev.* 2013; 93 (1): 359-404.
5. Masschelin PM, Cox AR, Chernis N, Hartig SM. The Impact of Oxidative Stress on Adipose Tissue Energy Balance. *Front. Physiol.* 2020; 10:1638.
6. Hernández RJ, Mahmoud AM, Königsberg M, López Díaz NE. Obesity: pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. *Biomed Pharmacother.* 2019; 111: 503-16.
7. Krinke GJ. *The laboratory rat: the handbook of experimental animals.* London: Academic Press; 2000.
8. Bernardis LL, Patterson BD. Correlation between Lee Index and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol.* 1968; 40 (4): 527-8.
9. American Veterinary Medical Association. AVMA Guidelines for the euthanasia of animals: 2020 [Internet]. Bethesda: National Institutes of Health; 2020 [Citado 20/06/2020]. Disponible en: <https://olaw.nih.gov/news/avma-guidelines-euthanasia-animals-2020-edition-posted.html>

10. Arranz C, González Suárez RM. Utilización de un método rápido para la separación de la hormona libre y unida en el radioinmunoensayo de insulina. *Rev Cubana Invest Biomed.* 1988; 7: 150-6.
11. Mathews DR, Hosker JP, Rudenki AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and Beta Cell Function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetología.* 1985; 28 (7): 412-9.
12. Cacho J, Sevillano J, De Castro J, Herrera E, Ramos MP. Validation of simple indexes to assess insulin sensitivity during pregnancy in Wistar and Sprague-Dawley rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008; 295 (5): E1269-76.
13. Unger G, Benozzi SF, Perruzza F, Pennacchiotti GL. Índice triglicéridos y glucosa: un indicador útil de insulinoresistencia. *Endocrinol Nutr.* 2014; 61 (10): 533-40
14. Hisakazu M. Determination of nitrate in biological fluids using nitrate reductase in a flow system. *J Health Sci.* 2001; 47 (1): 65-7.
15. Witko Sarsat V, Friedlander M, Capeillere Blandin C, Nguyen Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, *et al.* Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 1996; 49 (5): 1304-13.
16. Beutler E. Improved assay of the enzymes of glutathione synthesis. *Clin Chim Acta.* 1986; 158 (1): 115-23.
17. Bunce M. PCR-SSP typing. En: Bidewell JI, Navarrete C. *Histocompatibility testing.* England: Imperial College Press; 2000.p.149-86.
18. Bayne K, Turner Patricia V. *Laboratory animal welfare.* London: Academic Press; 2014.
19. Zubiría MG, Alzamendi A, Moreno G, Portales A, Castrogiovanni D, Spinedi E, *et al.* Relationship between the balance of hypertrophic/hyperplastic adipose tissue expansion and the metabolic profile in a high glucocorticoids model. *Nutrients.* 2016; 8 (7): 89-91.
20. Farraú F, Korbonits M. Metabolic comorbidities in Cushing's Síndrome. *Eur J Endocrinol.* 2015; 173: M133-57.
21. John K, Marino JS, Sánchez ER, Hinds TD. The glucocorticoid receptor: cause or cure for obesity?. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2016; 310 (4): E249-57.
22. Damiani Cavero JS, Olivera García H, Núñez López N, Dovalé Borjas A, Ferrero Rodríguez LM, Cruz García MA, *et al.* Sistema nervioso y endocrinología básica. En su: *Morfofisiología.* 2 ed. La Habana: Ecimed; 2015. p.222.
23. Damasceno DC, Sinzato YK, Bueno A, Dallaqua B, Lima PH, Calderon I, *et al.* Metabolic Profile and Genotoxicity in Obese Rats Exposed to Cigarette Smoke. *Obesity .* 2013; 21(8):1596-601.
24. França LM, Freitas LN, Chagas VT, Coêlho CF, Barroso WA, Costa GC, *et al.* Mechanisms underlying hypertriglyceridemia in rats with monosodium L-glutamate-induced obesity: Evidence of XBP-1/PDI/MTP axis activation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014; 443 (2): 72-3.
25. França LM, Coêlho CFF, Freitas LNC, Souza ILS, Chagas VT, Debbas V, *et al.* Syzygium cumini leaf extract reverts hypertriglyceridemia via downregulation of the hepatic xbp-1s/pdi/mtp axis in monosodium l-glutamate-induced obese rats. *Oxid Med Cell Longev [Internet].* 2019 [Citado 20/06/2020]; 219: 9417498. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6446099/>
26. Lubaczewski C, Balbo SL, Ribeiro RA, Vettorazzi JF, Santos Silva JC, Carneiro EM, *et al.* Vagotomy ameliorates islet morphofunction and body metabolic homeostasis in MSG-obese rats. *Braz J Med Biol Res.* 2015; 48 (5): 447-57.
27. Sokolowska E, Blachnio Zabielska A. The Role of Ceramides in Insulin Resistance. *Front Endocrinol .* 2019; 10: 577.
28. Villagarcía HG, Castro MC, Arbeláez LG, Schinella G, Massa ML, Spinedi E, *et al.* N-Acetyl-L-Cysteine treatment efficiently prevented pre-diabetes and inflamed-dysmetabolic liver development in hypothalamic obese rats. *Life Sci.* 2018; 199: 88-95.
29. Griendling KK, Touyz RM, Zweier JL, Dikalov S, Chilian W, Chen YR, *et al.* Measurement of reactive oxygen species, reactive nitrogen species, and redox-dependent signaling in the cardiovascular system: a scientific statement from the american heart association. *Circ Res.* 2016; 119 (5): e39–e75.
30. Da Cunha NV, Pinge Filho P, Panis C, Silva BR, Pernomian L, Grando MD, *et al.* Decreased endothelial nitric oxide, systemic oxidative stress, and increased sympathetic modulation contribute to hypertension in obese rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014; 306 (10): H1472-80.
31. Seiva F, Chuffa LG, Pereira C, Amorim JP, Fernandes AA. Quercetin ameliorates glucose and lipid metabolism and improves antioxidant status in postnatally monosodium glutamate-induced metabolic alterations. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50 (10): 3556-61.
32. Masschelín PM, Cox AR, Chernis N, Hartig SM. The Impact of Oxidative Stress on Adipose Tissue Energy Balance. *Front Physiol.* 2020; 10: 1638.
33. Battelli MG, Bortolotti M, Polito L, Bolognesi A. The role of xanthine oxidoreductase and uric acid in metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2018; 1864 (8): 2557-65.
34. Sharaf El, Din UA, Salem MM, Abdulazim DO. Uric acid in the pathogenesis of metabolic, renal, and cardiovascular diseases: a review. *J Adv Res.* 2017; 8 (5): 537-54

**Conflictos de intereses**

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

**Contribución de autoría**

GSR: Realización del diseño experimental, procesamiento de muestras, procesamiento y análisis de los resultados.

CCG: Procesamiento de muestras.

TAS: Procesamiento de muestras

TFR: Procesamiento y análisis de los resultados.

SCH: Realización del diseño experimental y análisis de los resultados.

Todas las autoras participamos en la discusión de los resultados y hemos leído, revisado y aprobado el texto final del artículo.