



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**CAMBIOS MORFOFUNCIONALES DE RIÑÓN E HÍGADO EN OBESIDAD POR
ACCIÓN DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORAS: FRANCISCA FUENTEALBA ROJAS
TAMARA ROJAS PÉREZ
PROFESOR GUÍA: DR. IGNACIO ROA HENRÍQUEZ**

TALCA-CHILE

2020

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Índice de tablas y figuras	2
Resumen	3
Introducción	4
Objetivos	6
Metodología de búsqueda	7
Marco teórico	
• El potencial peligro del glutamato monosódico en la dieta	8
• Obesidad: contexto mundial y nacional	12
• Obesidad y efectos del GMS	14
• Aumento del peso corporal y parámetros bioquímicos	16
• Síntesis del glutamato y su importancia en el metabolismo	18
• Daño en la morfología renal inducido por glutamato monosódico	19
• Estrés oxidativo en el riñón	21
• Relación con la fibrosis intersticial y la urolitiasis	22
• Generación de especies reactivas del oxígeno inducido por GMS en riñón	24
• Receptores del glutamato en el riñón	25
• Antiporte cistina-glutamato	26
• Alfacetoglutarato-deshidrogenasa: generador de ROS	27
• Rol de la vitamina E	28
• Alteraciones histológicas del hígado	29
• Alteraciones metabólicas del hígado	30
• Estrés oxidativo en el hígado	31
• Receptores de glutamato en el hígado	33
• El rol del glutamato en el metabolismo hepático	34
• Relación GMS-Obesidad y sus efectos en riñón e hígado	35
Conclusión	44
Referencias bibliográficas	50

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Diferentes fuentes de GMS en productos comerciales	9
Figura 1: Tasa de obesidad en adultos	12
Figura 2: Mecanismo por el cual el GMS induce obesidad y otros efectos en riñón e hígado	36
Tabla 2: Resumen de investigaciones mencionadas	37

Resumen: El glutamato monosódico (GMS) es un conocido aditivo que se utiliza ampliamente en la industria alimenticia para potenciar el sabor de algunos alimentos principalmente aquellos procesados. Diversos estudios, la mayoría realizados en animales, han propuesto la relación entre su consumo y la toxicidad que produce en distintos órganos como cerebro, riñón e hígado junto con el desarrollo de problemas metabólicos como diabetes, obesidad e insulino resistencia. Sin embargo, debido a que se desconocen en parte alguno de los mecanismos que ocurren en estos procesos es que este trabajo tiene como fin analizar los cambios tanto morfológicos como funcionales que ocurren en el riñón e hígado junto con a su asociación a los efectos que tiene el GMS con la obesidad.

Palabras claves: Glutamato monosódico, riñón, hígado, obesidad, toxicidad.

INTRODUCCIÓN

El glutamato monosódico (GMS) es una sustancia o aditivo conocido en la industria alimenticia por ser un potenciador del sabor utilizado en diversos tipos de alimentos procesados. Sin embargo, diferentes estudios en modelos animales han demostrado el potencial efecto tóxico que puede tener este compuesto en el organismo, así como la relación de este y el desarrollo de diferentes niveles de obesidad que podrían conllevar a desarrollar otro tipo de patologías si este se consume en exceso dentro de la dieta. Sumado a lo anterior ha sido reportada la relación de esta sustancia con el desarrollo de diabetes, insulino resistencia, así como alteraciones en múltiples órganos como corazón, hígado, cerebro, riñón, entre otros.

El uso GMS es cuestionado debido a su posible asociación a alteraciones tales como la obesidad, disfunción gonadal, dificultad de aprendizaje, etc. El glutamato es un aminoácido natural que es producido en pequeñas cantidades por el cuerpo humano, también es un neurotransmisor excitatorio, es intermediario en el metabolismo proteico y precursor de moléculas importantes en la regulación de estrés oxidativo. El GMS produce radicales libres derivados del oxígeno que se metabolizan en el hígado que causan diferentes daños morfológicos e histológicos (1), y que como consecuencia causaría alteraciones a nivel cerebral provocando un daño en el organismo.

El estrés oxidativo es causado por una excesiva producción o una disminución de la eliminación de radicales libres en las células, la mayoría de los cuales son especies radicalarias del oxígeno conocidas como ROS. El metabolismo nutricional y otros factores extra e intracelulares como hormonas, citoquinas, y procesos de detoxificación alterados contribuyen al estrés oxidativo. Por lo tanto, el metabolismo renal excesivo del glutamato que se observa en la ingesta crónica del GMS, parece ser una importante fuente de producción de ROS. Además, niveles disminuidos de enzimas antioxidantes y aumento en la lipoperoxidación han sido reportados en riñones de ratas expuestas al GMS de manera crónica.

Uno de los mayores problemas que se ha visto asociado al GMS ha sido la obesidad, se ha vuelto un problema de salud a nivel mundial, esto sumado a la disminución en la calidad de vida de los pacientes, así como las complicaciones derivadas de sus comorbilidades tales como la progresión a diabetes, alza en presión sanguínea, dislipidemia, enfermedad del hígado graso no alcohólico, problemas renales, entre otras complicaciones. (2)

Para comprender más a fondo las consecuencias que produce el GMS en la función renal y hepática es que se busca investigar sus efectos en el organismo, principalmente enfocándose en la morfología y función de cada órgano. Es por ello, que teniendo en cuenta que existen datos que correlacionan el daño renal y hepático con el consumo crónico de GMS y el estrés oxidativo se buscará estudiar más en profundidad los efectos del GMS en riñón e hígado para entender los mecanismos fisiopatológicos que están implicados en la toxicidad descrita.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Conocer los efectos del glutamato monosódico en riñón e hígado y su relación con la obesidad.

Objetivos específicos:

1. Conocer los usos y acción del GMS
2. Analizar los cambios morfológicos y funcionales producidos en el riñón
3. Analizar los cambios morfológicos y funcionales producidos en el hígado
4. Analizar el efecto del GMS en la obesidad

METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA

Se realizó una revisión bibliográfica relacionada con la información disponible acerca de los cambios morfofuncionales en hígado y riñón por acción del glutamato monosódico (GMS). Para esta revisión se realizó la búsqueda en revistas indexadas de tal forma de asegurar que estos artículos han cumplido con criterios de calidad, los cuales les han permitido ingresar a bases de datos internacionales y/o nacionales. Las bases de datos consultadas fueron: PubMed, Web of Science, Scopus, Scielo y Google Scholar de manera de analizar los trabajos publicados en relación con el tema de investigación durante los últimos 50 años.

MARCO TEÓRICO

El potencial peligro del glutamato monosódico en la dieta

El glutamato monosódico (GMS) es uno de los potenciadores de sabor más utilizados actualmente en los alimentos procesados. Su aplicación ha aumentado con el paso del tiempo y se puede encontrar en gran parte de las comidas a lo largo de todo el mundo. Se indica que este aditivo da un aroma especial a las comidas y una sensación que se describe como adictiva por sus consumidores. Aunque algunos organismos reguladores de la inocuidad en alimentos han considerado que el GMS no es completamente dañino, varios estudios en animales han puesto en duda la seguridad de su consumo ya que más allá de sus efectos potenciadores de sabor en los alimentos, el GMS ha sido asociado con varias formas de toxicidad en varios órganos, en donde se encuentra relacionado principalmente a obesidad, trastornos metabólicos, efectos neurotóxicos, alteraciones en órganos reproductores, entre otros. (3)

La utilización del glutamato monosódico (GMS) ha aumentado con el paso de los últimos años estimándose una ingesta diaria de 0,3 a 1,0 gramos en países industrializados europeos (4), convirtiéndose en uno de los aditivos más usados en la industria alimenticia, de tal manera que puede ser encontrado en muchos alimentos procesados que pueden ser fácilmente obtenidos en el mercado (Tabla 1) (5).

Tabla 1: Diferentes fuentes de GMS en productos comerciales (5)

Ingredientes que contienen ácido glutámico	Ingredientes que contienen GMS	Ingredientes que desencadenan toxicidad por GMS en individuos sensibles
<p>Ácido glutámico (E620) Glutamato monosódico (E621) Glutamato monopotásico (E622) Glutamato cálcico (E623) Glutamato amónico (E624) Glutamato magnésico (E625) Proteína hidrolizada Caseinato de calcio Caseinato de sodio Extracto de levadura Levadura autolizada Gelatina Proteína texturizada Proteína de suero de leche y productos relacionados Proteína de soya y otros productos Proteína fortificada Alimentos fermentados Proteasa “Vetsin” o “Ajinomoto” (Nombres comerciales del GMS como aditivo)</p>	<p>Carragenina (E407) Caldos comerciales Saborizantes artificiales Maltodextrina Oligodextrina Ácido cítrico (E330) Productos ultra pasteurizados Malta de cebada Levadura Pectina Extracto de malta Condimentos</p>	<p>Maicena Jarabe de maíz Almidón modificado Almidón lipolizado Dextrosa Jarabe de arroz Jarabe de arroz integral Leche en polvo Leche semi-descremada (al 1% o 2%) Productos bajos en grasa Productos enriquecidos en vitaminas Vinagre Quelatos de aminoácidos específicos como citrato, aspartato y glutamato (actúan como agentes quelantes con suplementos minerales)</p>

El descubrimiento de este nuevo sabor que posteriormente se haría conocido como GMS se hizo en 1908 donde el doctor Kikunae Ikeda mientras saboreaba un caldo hecho de una especie de alga marina (kombu), y así descubrió que finalmente lo que le daba el sabor distintivo a ese caldo era el ácido glutámico, llamando así al quinto gusto “umami”. En 1909 se lanzó una empresa comercial para comenzar a vender AJINOMOTO®, el primer sazonador umami del mundo. (6)

El glutamato en el hígado e intestino constituye una fuente de energía y es precursor de moléculas de relevancia biológica. Por otro lado, en el sistema nervioso central se comporta como un neurotransmisor excitatorio (7). Los neurotransmisores principales son acetilcolina, GABA, glicina, glutamato, dopamina, histamina, noradrenalina, serotonina, péptidos opioides, taquicininas. (8)

El glutamato es considerado uno de los aminoácidos más presentes en el cuerpo humano, así como también se encuentra presente de forma natural en alimentos ricos en proteínas. De esta manera, el glutamato es conocido por ser un neurotransmisor excitatorio del sistema nervioso central que actúa por medio de receptores de glutamato ionotrópicos (iGluR) y receptores de glutamato metabotrópicos (mGluR) (9). En los receptores metabotrópicos hay tres grupos de receptores (que van desde mGluR1 a mGluR8) y cuatro clases de receptores ionotrópicos (NMDA, AMPA, Delta y Kainato). Todos estos receptores se encuentran en el sistema nervioso central, son mucho más numerosos en el hipotálamo, hipocampo y amígdala. (5, 10)

Los receptores ionotrópicos son un conjunto de proteínas que forman un canal iónico a través de la membrana. En el momento que los iones (Na^+ , K^+ o Ca^{2+} , Cl^- , etc.) atraviesan el canal se da origen a una corriente eléctrica que se detiene en el momento en el que el

neurotransmisor se disocia del receptor (actividad sináptica rápida en el SNC). Es así cuando la unión del glutamato a los receptores ionotrópicos permite el paso de estos iones (Na^+ , K^+ o Ca^{2+}) provocando la despolarización de la membrana. Y los receptores metabotrópicos se encuentran acoplados a una proteína G, los que provocan la movilización de segundos mensajeros y modulación de la actividad de algunas enzimas. Esta es una respuesta que demora más en activarse, pero su respuesta tiene un efecto más prolongado (actividad sináptica excitatoria lenta) (10).

Los receptores que captan el sabor umami son los de tipo metabotrópicos de glutamato (mGluRs), conformados por el dímero T1R1 y T1R3. Además, estos receptores presentan un dominio transmembrana con siete hélices, dominio globular extracelular, y un dominio citosólico que se encuentra asociado a GTPasas de clase III. Los ligandos de los receptores umami son: L-glutamato, inosina-5'-monofosfato (IMP) y guanosina 5' fosfato (GMP) o la combinación de estos (7).

Cuando las subunidades $G\beta\gamma$ se asocian y activan, la fosfolipasa $C\beta 2$ se forma el segundo mensajero, el inositoltrifosfato (IP3), que favorece la liberación del ión calcio (Ca^{2+}) intracelular (11). El glutamato unido a proteínas no presenta el efecto realzador del sabor (9).

Obesidad: contexto mundial y nacional

En el reporte que realizó la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) para el año 2018 Chile ya ocupaba el 2º lugar en el ranking de obesidad a nivel mundial, sólo siendo superado por Estados Unidos (Figura 1) (12). Estas cifras resultan ser muy alarmantes, debido a que se está indicando en que una gran parte de la población chilena presenta algún grado de obesidad además el aumento de la tasa de obesidad comparada con años anteriores se ha incrementado de manera muy rápida.

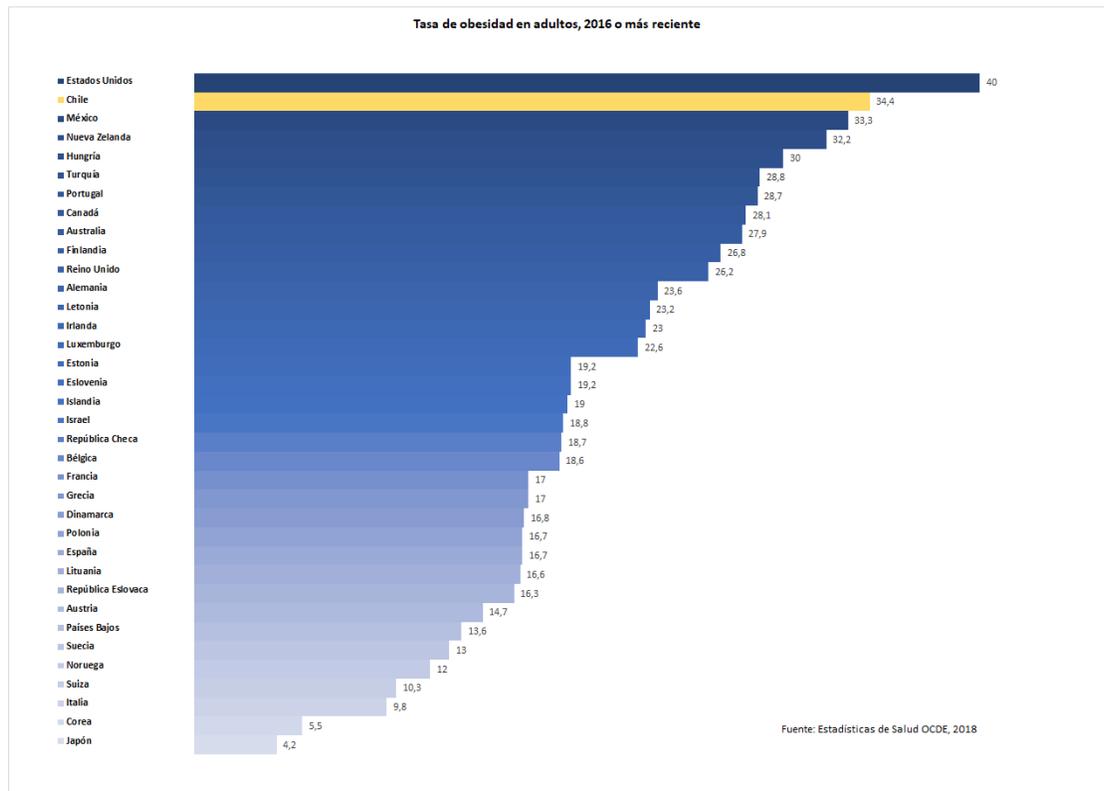


Figura 1: Tasa de obesidad en adultos. En el gráfico se muestra el porcentaje de población adulta total obesa en cada país, donde Chile ocupa el segundo lugar entre los países de la OCDE en obesidad. Tomado y adaptado del sitio web de la OCDE, 2018. (12).

Más preocupantes aún son las comorbilidades que trae consigo este aumento excesivo de peso, como lo son adquirir enfermedades cardiovasculares, diabetes, trastornos en el aparato locomotor, algunos tipos cánceres que están relacionados a ello como los de endometrio, mama, ovarios, próstata, hígado, vesícula biliar, riñones y colon, entre otros, un riesgo que se ha visto que aumenta proporcionalmente al índice de masa corporal (13) relacionándose de esta manera con problemas metabólicos como la resistencia a la insulina, aumento de colesterol y triglicéridos (14).

Por otra parte, con respecto a la población más joven, la Organización Mundial de la Salud (OMS) menciona que la obesidad infantil se asocia con mayor probabilidad de muerte prematura, así como distintos grados de discapacidad en la edad adulta, y además menciona que los niños que padecen de algún grado de obesidad infantil pueden llegar a sufrir de dificultades respiratorias, aumentar el riesgo de fracturas y llegar a desarrollar hipertensión, por lo que presentarían un alto riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares a temprana edad, resistencia a la insulina y efectos psicológicos (13).

En el caso de la población escolar en Chile, se mantiene la evolución del sobrepeso, pero un aumento en la evolución de la obesidad desde el año 2009 al año 2019. Un 23% de los alumnos en todos los niveles educativos presentan obesidad. También es importante destacar que desde 1960 hasta el 2019 la desnutrición fue disminuyendo debido a las diferentes estrategias a nivel gubernamental que se han ido empleando a lo largo de los años con el fin de superar esta problemática, sin embargo, la obesidad ha ido en constante aumento hasta la actualidad, a pesar de las distintas campañas que se han hecho para enfrentar esto (15). De mantenerse la tendencia, se calcula que para el año 2030 más del 40% de la población del planeta tendrá sobrepeso y más de la quinta parte será obesa (16).

Obesidad y efectos del GMS

En una cantidad importante de estudios se ha demostrado que el consumo de GMS en etapas tempranas de la vida sería un precedente para el desarrollo de la obesidad y otras complicaciones.

En el año 1969 ya se estudiaba el efecto de la administración subcutánea de GMS que causaba lesiones cerebrales. La información hasta ese momento establecía que la administración con GMS inducía lesiones cerebrales, caracterizadas por edema intracelular y necrosis neuronal. Además, se encuentra destrucción del núcleo preóptico y arqueado del hipotálamo junto con las neuronas dispersas dentro de la eminencia media (17). Entonces, por estos años ya se habían observado lesiones en la región periventricular arqueada del hipotálamo posterior a una administración con GMS en monos Rhesus infantiles. Así, por microscopia electrónica, se estableció que el daño se producía en las dendritas y cuerpos celulares de las neuronas. Muchos cuerpos neuronales presentaban edema, y algunos orgánulos citoplasmáticos sufrían un proceso lítico, mientras que en los núcleos se observaban alteraciones en el patrón de la cromatina (18). Este compuesto induce lesiones hipotalámicas que resultan en cambios metabólicos y neuroendocrinos que conllevan al desarrollo de la obesidad (5).

Roman-Ramos y col. al exponer a ratones a GMS notaron el aumento en la expresión de mRNA de interleuquina-6 (IL-6), factor de necrosis tumoral- alfa (TNF-alfa), resistina y leptina, además de provocar intolerancia a la glucosa, aumentar los niveles de insulina. El perfil inflamatorio en este modelo de obesidad inducida por GMS sugiere que es a causa de la activación de PPAR (receptores activados por proliferadores peroxisómicos) (19). En el estudio de Wang y col. encontraron que posterior a la administración de GMS se estimulaba

la secreción de insulina (20), así como en otro estudio donde demostraron que el glutamato estimulaba transitoriamente la secreción de insulina desde el páncreas, es decir, se lograba una mayor concentración de insulina a altas concentraciones de glucosa, más no a bajas concentraciones de la misma. Este efecto se logra mediante el receptor de glutamato de tipo AMPA. La secreción de insulina en respuesta a la presencia de glutamato sugiere que este aminoácido no es un iniciador en la secreción de insulina, pero sí un potenciador (21).

La leptina es una adipocina secretada por los adipocitos que regula el peso corporal. Su receptor (Ob-Rb) se expresa en varias neuronas del núcleo hipotalámico. Su función está relacionada con la ingesta de alimento y balance energético. Por ende, esta provocaría una supresión del apetito, con ello disminución de los niveles de insulina, glucosa y lípidos (22). Como se mencionó hay estudios que demuestran que el GMS produce lesiones en el núcleo arqueado del hipotálamo, por lo tanto, no habría una correcta señalización de la leptina a nivel cerebral y no habría saciedad en el individuo. En un estado alimentado se conoce que leptina inhibe la producción de insulina en el páncreas y a su vez, la insulina estimula la producción de leptina en los adipocitos (23). En distintos estudios donde se presenta un modelo de obesidad en animales se observa que con una dieta alta en grasa se presenta hiperleptinemia que termina provocando la resistencia a la leptina (22). Brabant y col. demostraron que la leptina es capaz de alterar la señalización de insulina en el hígado por lo que habría una inhibición de esta (24) provocando problemas en el metabolismo de la glucosa hepática.

Aumento del peso corporal y parámetros bioquímicos

Producto del consumo indiscriminado de GMS que están contenidos en algunos de los alimentos que se puedan consumir en la dieta diaria, se ha observado que existe un riesgo en el aumento de peso al grado de llegar a la obesidad impactando en la regulación del apetito (25). En conjunto con ello, se ha visto que se ven afectados algunos parámetros bioquímicos tales como lo son insulinemia, aumento en los triglicéridos y LDL colesterol, entre otros que han sido reportados en grupos tratados con un régimen dietético de GMS sin restricciones (26), lo cual hace una asociación directa entre patrón alimenticio y glicemia y perfil lipídico. Con respecto a ello, Kondro y col. observaron la obesidad en ratas de 16 semanas de edad mediante el índice de Lee al ser comparados con un grupo control, además se encontraron niveles de colesterol total, triglicéridos, LDLc altos y bajos niveles de HDLc (27). La obesidad en modelos de ratas inducidas por GMS estaría dada por el daño en el núcleo arqueado del hipotálamo, lo cual resulta además disfunción neuroendocrina, y finalmente en una hiperinsulinemia provocada por esta disminución de la respuesta de leptina gracias al daño que provoca el GMS en el núcleo arqueado del hipotálamo (28).

Entonces como se conoce, la obesidad es un factor predisponente para padecer intolerancia a la glucosa y diabetes mellitus tipo II, enfermedad que se caracteriza por una insulino resistencia y disfunción en las células β . Frente a esto, estudios clínicos sugieren que un aumento en los niveles del glucagón jugaría un rol importante en la patogénesis de la diabetes. Así es como Araujo y col. quienes en su investigación indagaron sobre la participación que tiene el glucagón en el control de la glicemia en ratones con obesidad inducida por GMS, estos encontraron que a los 90 días los ratones obesos inducidos por GMS eran hiperglucémicos, hiperinsulinémicos e hiperglucagémicos y perdieron la capacidad de aumentar la proporción de insulina/glucagón al pasar del ayuno al estado alimentado, provocando una exacerbación de la producción de la glucosa hepática (29).

Por otra parte, también algunos estudios han informado que cuando se tienen en cuenta otros alimentos o patrones dietéticos, no existe una asociación entre la ingesta de GMS y el aumento de peso. Sin embargo, recientemente fue observado en un modelo animal experimental para diabetes mellitus tipo II, el cual usó una combinación de GMS y dieta alta en azúcar. En esta investigación se logró evidenciar un aumento del peso corporal, hiperglicemia, dislipidemia e hiperinsulinemia, además de mostrar complicaciones diabéticas como la resistencia a la insulina, hipertensión, disfunción vascular, neuropatía y demencia (30).

Se ha demostrado también que efectivamente existe retención de potasio, sodio y agua debido a la ingestión de GMS. Relacionado a esto una investigación trató dos grupos de ratas uno con GMS y otro con NaCl, aquí se encontró que en ambos grupos las ratas mostraron presión sanguínea significativamente alta. Sin embargo, en ambos tanto la excreción urinaria de Na como la proporción de K/Na fueron menores en el grupo tratado con GMS. A pesar de que ambos grupos presentaron alta presión sanguínea, la diferencia posterior en el grupo tratado con GMS se explicaría por qué las ratas con GMS simultáneamente retendrían más potasio. El potasio es vasoactivo, por lo que induce la vasodilatación por hiperpolarización de células vasculares del músculo liso y tiene la capacidad para aumentar el flujo sanguíneo. Cabe mencionar también que relacionado con la alteración en la excreción urinaria de iones sodio y potasio, en las ratas tratadas con GMS se observó un aumento en la excreción urinaria de calcio con una disminución en la excreción de fósforo (31).

Síntesis de glutamato y su importancia en el metabolismo (32)

Dentro de una de las clasificaciones de los aminoácidos, el glutamato está considerado en el grupo de aminoácidos no esenciales, es decir que, no es necesario incorporarlo estrictamente dentro de los alimentos de la dieta ya el organismo de por sí es capaz de sintetizarlo. Dentro del ciclo de Krebs se obtiene el alfa-cetoglutarato que sirve como precursor del glutamato y este a su vez es precursor de glutatión, arginina y prolina. Además, cabe destacar que dentro de este proceso en las reacciones de transaminación se recogen los grupos amino de muchos aminoácidos diferentes para de esta manera formar glutamato.

Una de las funciones del glutamato (y la glutamina) es gestionar el metabolismo del nitrógeno. En el citosol de las células hepáticas ocurre que la mayoría de los grupos amino de los aminoácidos pasan al alfa-cetoglutarato formando así el glutamato. Posterior a esto, el glutamato es transportado a la mitocondria, donde este cede el grupo amino que posee para formar amoníaco (NH_4^+). En la mayoría de los tejidos, la glutamina, o el glutamato, o ambos, se encuentran en concentraciones más elevadas que el resto de los aminoácidos.

Como se ha mencionado anteriormente, el glutamato cumple un rol importante en el metabolismo intracelular de los grupos amino que circulan en el organismo, una vez que es sustituido por la glutamina cumple la función de transporte y se convierte en un compuesto no tóxico, así es transportado al hígado y riñones. El amoniaco libre que se produce en los tejidos es combinado con glutamato, resultando glutamina por acción de la glutamina sintetasa. El amoniaco producido de todas estas fuentes se elimina básicamente mediante la síntesis de urea en el hígado. Sin embargo, la mayor parte del glutamato entra en las reacciones necesarias para la biosíntesis de aminoácidos, así como otros procesos del organismo que se relacionan con el metabolismo.

El grupo amino se transfiere al piruvato, gracias a la acción de la alanina aminotransferasa en el músculo esquelético. La alanina pasa a la sangre y es posteriormente transportada al hígado. En los hepatocitos, específicamente en el citosol, la misma enzima mencionada anteriormente realiza la transferencia del grupo amino de la alanina al alfa-cetoglutarato, formando de esta manera glutamato y piruvato. Posteriormente, el glutamato puede entrar en las mitocondrias, aquí ocurre una liberación de amoníaco por parte de la reacción de la glutamato deshidrogenasa, o también puede ocurrir una transaminación con oxalacetato, produciendo aspartato, que dentro de la síntesis de urea también es un dador de nitrógeno.

Por lo tanto, durante el transcurso del catabolismo de los aminoácidos de la separación del grupo amino de su esqueleto carbonado, el grupo amino se transferirá al alfa-cetoglutarato formando de esta manera glutamato. Este pasa a las mitocondrias de las células hepáticas, donde la enzima glutamato deshidrogenasa libera el grupo amino en forma de amoníaco. Finalmente, el amoníaco que fue formado en otros tejidos se transporta al hígado en forma de glutamina o también en el transporte desde el músculo esquelético en forma de grupo amino de la alanina.

Daño en la morfología renal inducido por GMS

La asociación entre factores que influyen en la dieta de un individuo, incluyendo dentro de ellos los alimentos que contengan GMS y el riesgo de desarrollar alguna enfermedad relacionada con el daño renal ha sido indicada en diversos estudios científicos hasta la fecha. Se conoce que los riñones son altamente sensibles a desarrollar procesos de isquemia y/o de toxicidad, lo que conlleva a alteraciones tanto directas como indirectas del correcto funcionamiento de este órgano, lo cual puede resultar finalmente en alteraciones del metabolismo de las células renales que podría terminar desencadenando a la larga algún proceso de insuficiencia renal tanto aguda como crónica (33).

El GMS es capaz de inducir cambios en la estructura renal, es decir, en la forma en que las células se encuentran organizadas dentro del tejido, pudiendo producir así la hipercelularidad del glomérulo renal con infiltración de células del tipo inflamatorio en la corteza renal, lo que se puede ver acompañado también de edema en los túbulos renales (34), todo esto en conjunto provocaría que eventualmente con el paso del tiempo se produzca una degeneración de gran parte de la función renal.

Algunas de las alteraciones celulares mencionadas anteriormente son consideradas como una de las causas más importantes que conllevan a la alteración morfológica del aparato renal y con ello del desarrollo de una patología que afecte a su función y por consiguiente a todo el organismo. Es por esto que, se considera que el estudio de tanto la histología como la morfología de riñones en modelos que han sido tratados con GMS podría contribuir a tener una mejor comprensión de los mecanismos que se llevan a cabo en el desarrollo prolongado del daño renal.

En ratas tratadas con GMS se observó alteración de los glomérulos y lesiones tubulointersticiales. Se encontró que existieron distintos estados de degeneración del glomérulo, mayor número de células mesangiales y fibrosis de la cápsula de Bowman. En la corteza, se encontró atrofia focal o dilatación de los túbulos con pérdida del borde, desplazamiento de los núcleos hacia la luz tubular junto con descamación celular. También, se observó que a menudo los túbulos dilatados mostraron moldes de proteínas intratubulares, así como también fibrosis tisular intersticial entre los túbulos dañados con acumulación leve de células mononucleares (31).

Uno de los efectos que se ha visto mayormente descrito en la literatura científica es la vulnerabilidad que presentan las células tubulares del riñón frente a la acción tóxica de algunos químicos y sustancias como lo sería potencialmente el GMS, esto jugaría un rol fundamental en las funciones de absorción y secreción que desempeña habitualmente el riñón. Se conoce que estas actividades que realiza requieren de energía, por lo que este tipo de células deben poseer un alto metabolismo oxidativo para llevarlas a cabo con normalidad. Es así como, estas alteraciones del metabolismo energético renal se relacionarían con los mecanismos de toxicidad que produciría el GMS en el organismo y por consecuencia la afectación de tanto las células renales (33).

La disfunción celular que se produce luego del prolongado contacto con sustancias tóxicas podría considerarse como causante del desarrollo a posterior de gran parte de las alteraciones morfológicas del riñón, que resultan ser de apariencia similar independientemente del tipo de sustancia que esté afectando al riñón (3).

Estrés oxidativo en el riñón

El hecho de que se produzca la formación de especies reactivas del oxígeno en riñones que han sido expuestos a altas dosis de GMS ha resultado ser uno de los mayores contribuyentes a dilucidar los efectos nefrotóxicos que se conocen de esta sustancia en el riñón, que como ya se ha mencionado previamente llevarían a desarrollar daño funcional y celular dentro del este mismo (35). La constante administración de GMS ya sea mediante vía subcutánea u oral ha demostrado afectar el sistema antioxidante renal, viéndose específicamente alterados marcadores de antioxidación, en donde se han encontrado reducidos niveles de superóxido dismutasa, catalasa y glutatión transferasa/glutatión posterior a una dieta basada en GMS (36).

Relacionado a ello también se ha reportado que marcadores de lipoperoxidación como el malondialdehído (MDA) y algunos dienos conjugados se han visto aumentados en tejido renal tratado previamente con la misma sustancia. Es por ello que, se entiende que sea posible que el GMS provoque una producción excesiva de radicales libres y que junto con lo anterior los antioxidantes endógenos presentes en el organismo no sean capaces de contra restar los efectos tóxicos que provoca y que de esta manera se vayan acumulando en el órgano con el paso del tiempo acompañado con la constante ingesta de la sustancia (37).

Por otro lado, se han demostrado en algunos estudios el relativo efecto positivo que tendrían antioxidantes como lo son vitaminas como la C, E y quercetina en riñones que fueron tratados con GMS que a su vez poseían algún grado de daño celular. El mecanismo detallado por el cual estos antioxidantes ejercen este llamado efecto positivo aún no está completamente desarrollado, sin embargo, se menciona que parecerían jugar un papel clave contra la respuesta inflamatoria renal aparentemente mediante la disminución de la actividad de enzimas encargadas de la respuesta inflamatoria junto con la secreción de citoquinas (38).

Además, existen otros estudios relacionados con lo anterior en los que se describe que el uso de antioxidantes como la N-acetilcisteína y el ácido lipoico, tendrían una potencial protección terapéutica frente a la toxicidad que se produce en el riñón por acumulación de sustancias nefrotóxicas (39). A pesar de que no habría evidencia experimental que apoye el efecto protector de estas moléculas frente a la toxicidad renal inducida específicamente por GMS, se ha visto que al menos la N-acetilcisteína ha mostrado reducir los niveles de malondialdehído en modelos de ratón con obesidad (40). Asimismo, el ácido lipoico ha demostrado ser eficaz en la protección de los riñones frente al estrés oxidativo y disfunción mitocondrial. Estos hallazgos sumarían una visión positiva frente a la terapia contra la nefrotoxicidad inducida por GMS utilizando antioxidantes.

Relación con la fibrosis intersticial y la urolitiasis

Las nefropatías de tipo obstructivas a consecuencia de una dieta en donde exista la constantemente ingesta de GMS han sido reportadas en ratas adultas, lo que probablemente se deba a la orina alcalina que estas excretan, así como los bajos niveles de sustancias que evitan la formación de los cálculos renales tales como magnesio y citrato en la orina (41). El mecanismo exacto por el cual se produce la alteración del pH de la orina en estos animales aún no se conoce con exactitud, sin embargo, en la literatura se describe que es bastante probable que estas ratas que fueron tratadas previamente con GMS en su dieta generen más cantidad productos catabólicos del glutamato en las células y que estas estructuras sean convertidas en dióxido de carbono y luego en aniones del bicarbonato lo que explicaría la alcalinización del pH de la orina (41). Por lo tanto, el bicarbonato generado es luego absorbido a la circulación y finalmente llega a los riñones para la excreción de ese exceso de álcali, resultando así una alteración del pH normal en la orina. Es importante mencionar en este punto la forma en que la orina alcalina estaría afectando la funcionalidad del riñón, ya que se estarían viendo influidas las capacidades de secreción y reabsorción de metabolitos que posee normalmente el riñón, deteriorando así con el tiempo su funcionamiento usual, ya que la alteración de estos procesos podría contribuir con la formación de cálculos renales.

Ha sido reportado el desarrollo de hidronefrosis con cambios en la estructura renal como fibrosis en los compartimientos tubulointersticiales en ratas tratadas con GMS, esta patología consiste en una dilatación de los conductos renales lo que dificulta que se elimine la orina adecuadamente debido a la obstaculización de ellos dentro del sistema urinario, lo que se acompaña en la mayoría de los casos de una atrofia progresiva del parénquima renal (42). En este estudio se observó que a pesar de que no todas las ratas llegaron a desarrollar necesariamente hidronefrosis o cálculos renales, sí todas las ratas llegaron a mostrar niveles altamente significativos de fibrosis renal comparado con los animales controles del mismo estudio experimental (36), sugiriendo de esta manera el efecto negativo que tendría esta sustancia en el riñón, no solamente en su función metabólica, sino que también en su estructura.

Más en detalle con respecto a este punto, las alteraciones mecánicas que se producen podrían resultar en una obstrucción completa o parcial de los conductos renales, causando daño tubular y con ello un aumento de citoquinas proinflamatorias lo que finalmente podría conducir a la fibrosis renal. Por lo que se puede considerar que el estrés oxidativo y la litiasis estarían relacionadas al ser unas de las principales causas que conducirían a la fibrosis en el riñón, lo cual está a su vez fuertemente asociado con el progreso de las diferentes enfermedades renales.

Sin embargo, es importante mencionar que también existen datos de estudios en donde se ha visto alterada únicamente la función metabólica renal, la cual después de un tiempo se ha visto levemente recuperada y no se han producido otros daños que conllevan al desarrollo de patologías de tipo obstructivas como lo es el desarrollo de cálculos renales (43), esto probablemente debido a que el daño producido no fue completo en toda la funcionalidad de los riñones. Es por ello, que esto nos puede indicar que también existen otras variantes que se podrían considerar para el estudio de los efectos negativos de esta sustancia en el organismo, como lo son la dosis, el tipo de administración, el tiempo de exposición, la mezcla con otro tipo de sustancias, entre otros.

Generación de especies reactivas del oxígeno inducido por GMS en riñón

Se ha demostrado que la cadena transportadora de electrones sería la mayor fuente de producción de especies reactivas del oxígeno dentro de la toxicidad producida por la metabolización del glutamato y que junto con ello los niveles de glutamato extracelular aumentarían la formación de más radicales libres, acrecentando así el daño tisular que se produce en el riñón (44). En condiciones normales de funcionamiento las especies reactivas del oxígeno se producen como subproducto de la metabolización de distintas sustancias, sin embargo, estas no producen daño al organismo ya que son inactivadas por mecanismos de defensa que posee el mismo organismo para lidiar con ellas. Es por ello que el metabolismo de los distintos nutrientes que ingresan, como lo es en este caso el glutamato, podrían estar estrechamente relacionados en la producción del estrés oxidativo en el riñón y con ello alterando tanto su morfología como su función.

Una publicación reciente además ha demostrado que existe un aumento de la actividad de la alfa cetoglutarato deshidrogenasa, que se relacionaría con la producción excesiva de especies reactivas del oxígeno en los riñones de ratas estimuladas con GMS, tanto vía subcutánea como oral (45). Con respecto a este estudio se describe que altas concentraciones de glutamato estimulan el ciclo de Krebs y junto a ello conduce el estado redox de la célula. De esta manera se estaría produciendo un aumento de la gradiente de protones en la mitocondria debido a la alta concentración de glutamato, esto como consecuencia de la sobre producción de donantes de electrones en el ciclo de Krebs, que a su vez estaría aumentando la producción de superóxido en la célula, aumentando la probabilidad de que se produzca daño tisular dado que sería un mecanismo que no estaría siendo controlado en casos donde se producen patologías (46). Dentro del mismo estudio se menciona además un aumento de los niveles de gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa que también podría ser uno de los causantes de los altos niveles de estrés oxidativo que se reportaron en esta publicación, pero con menor incidencia que con el mecanismo anterior.

Por ello es posible que considerando todo lo inicialmente mencionado, en donde se observó que ocurrían distintas alteraciones en el metabolismo del glutamato en el riñón, es que entiende que esta alteración cambie las barreras de defensa y con ello el estado redox normal del organismo. No obstante, el mecanismo completo y todos sus efectos aún no son completamente entendidos, por lo que se encuentran en desarrollo más estudios en donde se buscaría explorar esta relación que existiría entre esta parte del metabolismo y el estrés oxidativo.

Receptores del glutamato en el riñón

La mayoría de los estudios encontrados en la literatura correlacionan el estrés oxidativo con el daño tisular a través de los receptores de glutamato (NMDA) vía calcio en la toxicidad renal inducida por GMS. Existen dos categorías de receptores disponibles para el glutamato que son ionotrópicos y metabotrópicos. Casi todos los receptores de glutamato que se conocen y muchas de las proteínas que interaccionan en este proceso se han encontrado en el riñón. Estudios funcionales han examinado los receptores NMDA que corresponden a un subtipo de receptor ionotrópico, que es el tipo de receptor de glutamato que regula un canal iónico activado por voltaje, estos específicamente favorecen la entrada de glutamato a través del intercambio iónico de calcio. La significancia funcional de estos para la funcionalidad normal del riñón aún no está completamente desarrollada, sin embargo, se ha visto que el aumento de las subunidades NR1 y NR2C del receptor NMDA se relacionan con el daño renal en modelos de rata con nefrotoxicidad por administración de gentamicina (47), lo cual daría luces de su estrecha relación.

Un estudio en el que se aplicaron agonistas y antagonistas del receptor NMDA en cultivos de células renales demostró que una estimulación excesiva o un bloqueo del receptor renal de NMDA daría como resultado la muerte celular, mediante el cambio en la dinámica iónica del medio por lo que activarían la generación de radicales libres y la lipoperoxidación, conllevando al daño celular (48). Este tipo de mecanismo conocido como excitotoxicidad se ha visto descrito principalmente en neuronas y pulmones, sin embargo, no existe información

directa sobre su rol en el riñón, es por ello que sería de gran utilidad que se existieran más estudios que investiguen el papel de estos receptores del glutamato, dentro del contexto de daño renal inducido específicamente por GMS, así como el bloqueo de los receptores NMDA para con esto buscar formas de prevenir la toxicidad producida y el daño celular y funcional.

Antiporte cistina-glutamato

El antiporte cistina-glutamato intercambia la cistina que se encuentra en el espacio extracelular por el glutamato intracelular en una gran variedad de células en el organismo. La absorción de cistina que deriva de este intercambio es vital en la mantención de los niveles de glutatión, que es conocido por su rol antioxidante dentro del cuerpo. Bajo la condición de estrés oxidativo, se ha visto que la actividad de este antiporte se ve en aumento (49).

Considerando que este sistema está altamente expresado en el riñón y los niveles de glutatión (GSH) se ven reducidos frente a la toxicidad inducida por GMS en un estudio se investigó la expresión de este sistema en riñones tratados con GMS que presentaban algún tipo de enfermedad renal aguda y/o crónica, sin embargo, no se observaron cambios significativos a nivel de su expresión de mRNA, por lo que cuenta sería importante considerarlo como antecedente de investigación a pesar de que no fue absolutamente concluyente, no se podría descartar por completo su relación (50).

Cabe mencionar que, en otro estudio, se logró observar una marcada inhibición de la absorción de cisteína por el glutamato en las células tubulares renales de ratas que se encontraban en cultivos celulares, pero se observó que no ocurrió lo mismo en células in vivo versus las células in vitro (51). Por ello se menciona que no dejan de ser importantes otros transportadores que ingresan cisteína a la célula que no tienen una relación tan estrecha con el glutamato como el sistema de antiporte anterior.

A pesar de todos estos hallazgos sobre el tema que nos indican la participación de este sistema antiporte en la disfunción renal, se necesitarían más investigaciones para encontrar el rol exacto que juega del antiporte de cisteína-glutamato en el daño renal oxidativo inducido por GMS, ya que la información disponible en la literatura hace en su mayoría sólo referencia a la toxicidad del glutamato en las células neuronales que conduce al estrés oxidativo mediante el sistema mencionado (52).

Alfa-cetoglutarato deshidrogenasa: un generador de ROS

Se ha demostrado que una mayor actividad de α -cetoglutarato está relacionada con la producción de ROS, en riñones de rata que fueron previamente estimulados por administración de GMS. De acuerdo, a lo que se reporta en este estudio, el glutamato aporta energía al ciclo de Krebs y a su vez modula el estado redox de la célula. Se menciona que la alta concentración de glutamato puede aumentar el gradiente de protones mitocondriales, lo que puede a su vez aumentar la producción de superóxido mitocondrial (37). Este mecanismo propuesto a pesar de que no se ha encontrado descrito en riñón, si está respaldado por evidencia de tejidos cerebrales donde α -cetoglutarato deshidrogenasa es un sitio potencial de generación de ROS contra el glutamato.

La α -cetoglutarato deshidrogenasa es un constituyente clave en el ciclo de Krebs, esta enzima es inhibida por su propio producto, succinil-CoA, por lo que juega un papel clave en la regulación redox celular (53). Sin embargo, se ha visto también que un mayor nivel de succinil-CoA ligasa en el tejido renal que ha sido tratado previamente con GMS podría favorecer la activación de α -cetoglutarato al consumir succinil-CoA (54). Además, cabe mencionar que, durante el estrés oxidativo una parte del ciclo de Krebs es mantenido por glutamato a través de α -cetoglutarato.

También niveles aumentados de gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa se han reportado en riñones de ratas tratados previamente con GMS, lo que podría estar causando altos niveles de estrés oxidativo, ya que se ha demostrado que gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa cataliza la producción de superóxido dependiente de NADH (55). Particularmente, NADH es uno de los reguladores que se conocen de la actividad de α -cetoglutarato deshidrogenasa, es así como es posible que el metabolismo excesivo del glutamato en el riñón evite las barreras a la α -cetoglutarato deshidrogenasa y que por ello altere el estado redox de la célula.

Es por lo que se necesitan más estudios que ayuden a dilucidar la relación que existe entre el metabolismo energético y el estrés oxidativo en los riñones tratados con GMS para entender por completo este fenómeno.

Rol de la vitamina E

Los efectos antioxidantes y antiinflamatorios de la vitamina E han sido ampliamente reportados hasta el día de hoy. Con respecto a sus efectos en el riñón, se describe principalmente que la vitamina E enlentecería los avances de la insuficiencia renal (IR) producida por el estrés oxidativo, reduciría la presión arterial alta también asociada a casos de IR y que junto a lo anterior también previene las lesiones renales agudas (56).

Por otra parte, con respecto a sus efectos en la morfología renal, se ha estudiado su uso como agente protector de la ultraestructura renal posterior a la administración de GMS en modelos animales. En un estudio reciente realizado el 2019, se postula que la altas dosis de vitamina E protegen contra la lesión renal inducida por GMS y las alteraciones ultraestructurales del riñón en ratas. Se enfrentaron dos grupos modelos de ratas, uno que recibió una dosis diaria de GMS y otro grupo que recibió una dosis diaria de GMS junto con vitamina E, ambos por 7 días. Se demostró que el tratamiento del grupo tratado con vitamina

E mostró una protección sustancial del tejido y ultraestructura renal. Además, dentro del mismo estudio se observó que el GMS aumentó significativamente los niveles de urea y creatinina, los que disminuyeron en el grupo tratado con altas dosis de vitamina E (57).

Además, frente a sus efectos en el hígado se informa que la vitamina E ha mejorado parte de la sintomatología de diversos tipos de enfermedades hepáticas como hígado graso no alcohólico, esteatohepatitis no alcohólica, fibrosis hepática e inflamación hepatocelular inducido por estrés oxidativo (58, 59). Así se ha observado que la vitamina E se ha usado en varios modelos de animales con enfermedades hepáticas para atenuar los síntomas y avances de la patología y así comprobar lo anteriormente mencionado.

Alteraciones histológicas del hígado

Algunas investigaciones han reportado cambios en la histología del hígado tales como la dilatación de la vena central, con contenido de glóbulos rojos lisados, cambios atróficos y degenerativos en el hígado de animales que recibían alimento con GMS incorporado (60). Otros cambios histológicos observados en la arquitectura del hígado han sido, hemorragia en la vena central o agrandamiento de esta, áreas de necrosis, vacuolaciones y aumento de la infiltración de células inflamatorias, gránulos de glicógeno junto con las fibras de colágeno, aparte de otras observaciones como la acumulación de gotas de grasa que han sido reportados en tejidos de hígado tratados con GMS (61, 62, 63). Todo lo anterior sumado además de alteraciones a nivel pancreático tales como hipertrofia e hiperplasia severa en los islotes pancreáticos (de Langerhans) (29). También en el hígado se observa una inflamación, granulación citoplasmática fina, vesículas pequeñas, núcleos contraídos redondeados e hiper cromáticos, cuerdas hepáticas interrumpidas, citoplasma hinchado aumento de vesículas. (35)

Según las investigaciones relacionadas con la administración de GMS a distintas concentraciones, es importante destacar que en este punto debe ser considerado que los daños provocados al hígado por el GMS también son dependientes de la dosis que se consuma, incluso a dosis bajas es capaz de producir alteraciones en el peso corporal y funciones hepáticas (64).

Alteraciones metabólicas del hígado

La obesidad se asocia con el riesgo de sufrir otras enfermedades y/o complicaciones como, por ejemplo, el alto riesgo de padecer la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD). Donde la característica de esta enfermedad es la esteatosis, que ocurre cuando la tasa de absorción y síntesis de ácidos grasos es mayor que la tasa de oxidación (65). En la NAFLD se produce un aumento de la actividad de las enzimas hepáticas (ASAT y ALAT) (35), que podría hacer sospechar del comienzo de la afectación hepática hasta la progresión de hígado graso. Se ha encontrado que ratones tratados con GMS a los 6 y 12 meses de edad han desarrollado histología característica de enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) y esteatohepatitis no alcohólica (NASH) (66). Coelho y col. demostraron que a los 60 días se presentó esteatosis micro vesicular que evolucionó a NASH a partir de los 120 días, y también acumulación de grasa retroperitoneal que evidenciaba una NAFLD, es decir, en este estudio se menciona que NAFLD es el resultado precoz de ratones obesos inducidos por GMS, y que el período comprendido entre 60 y 120 días sería el periodo en el cual ocurre la progresión de NAFLD a NASH (67).

En otros casos se han reportado que ratas neonatas tratadas con GMS de 16 semanas se asocian al síndrome metabólico, obesidad visceral, dislipidemia, y deterioro de la sensibilidad a la insulina, que también conducen al desarrollo de cambios histopatológicos típicos de enfermedad del hígado graso no alcohólico, esteatosis, con inflamación lobular,

degeneración “en globo” del hepatocito (o “ballooning”), dilatación de venas intralobulares, infiltración linfoide, presencia de macrófagos (68).

El consumo o administración de GMS está asociado a una hepatotoxicidad debido a la disminución en los niveles de GHS, y en la actividad de la catalasa y superóxido dismutasa, provocando un aumento en el estrés oxidativo (69).

Estrés oxidativo en el hígado

Desde hace décadas se han reportado los efectos nocivos que provocaría el uso indiscriminado de GMS en los alimentos, así se demuestra en un estudio realizado por Takasaki Y. (1978) ya probaba que la utilización a altas concentraciones revelaba la variedad de efectos tóxicos que este producía en el organismo (70).

La dieta hipercalórica y la administración de GMS induce alteraciones en la tasa metabólica de utilización de glucosa y disminuye las defensas antioxidantes por lo tanto el cambio metabólico de la glucosa hepática inducido por la ingesta de una dieta hipercalórica y administración de GMS se asocian con estrés oxidativo en el tejido del hígado (71).

Se ha reportado que los marcadores de estrés oxidativo se ven alterados cuando el organismo es sometido a una administración de GMS como en el estudio de El-Atrash y col. donde en sus resultados se observa un incremento de malondialdehído (MDA), una reducción en los niveles medidos en hígado de glutatión (GSH), superóxido dismutasa (SOD) y catalasa. Además, se menciona que el tratar con GMS el órgano, este modula la toxicidad, el estrés oxidativo y daño en el tejido hepático. Esto sugiere que el estrés oxidativo juega un rol en el desarrollo de la fibrosis hepática y a la degeneración de este (72). Resultados que

también se comparan con otro realizado por Albrahim y Binobead donde obtienen niveles hepáticos elevados de MDA y niveles reducidos de GSH, SOD, catalasa y GST (glutación S-transferasa) el cual es otro de los marcadores de estrés oxidativo que ellos midieron en su investigación (73).

Asimismo, se demostró que existe una relación en la administración de GMS y la hepatotoxicidad por un aumento en la lipoperoxidación a través del estrés oxidativo, reducción en las enzimas antioxidantes y fibrosis (74), así como también que el GMS indujo estrés oxidativo a través de la inducción de lipoperoxidación. La administración de GMS a dosis mayores de 4mg/g provocaría el estrés oxidativo en eritrocitos al incrementar la lipoperoxidación, siendo LPO un marcador de estrés oxidativo (75).

Por otra parte, la vitamina E es uno de los antioxidantes más importantes presentes en la dieta diaria, se ha estudiado el efecto de la vitamina E co-administrado con GMS, este antioxidante ha mejorado los niveles de LPO, aumenta los niveles de GSH y disminuye la actividad hepática de GST, catalasa, demostrando de esta manera el rol antioxidante que tendría frente al daño oxidativo producido en el hígado (58). La suplementación de vitamina D y vitamina E conlleva a una disminución de la lipoperoxidación, catalasa y superóxido dismutasa en el hígado, además de mejorar niveles de glutación (5).

Similar a lo anterior, otro estudio sugiere que la vitamina C también tendría un rol protector y positivo frente al estrés oxidativo que produce el GMS en el hígado, ya que en esta investigación se comprobó que se producía una disminución significativa en las células de proliferación y los genes supresores de tumores mutados y muestra un efecto hepatoprotector en el parénquima y la arquitectura del hígado frente al GMS (76). La vitamina A y C han demostrado proteger las células nerviosas y el córtex cerebral en ratas macho albinas. (5). También otro que cumplen un rol protector son el GES (ácido guanidino etanosulfónico) y la planta *Moringa oleifera* (MLE) que utilizados cada uno por separado en combinación con GMS disminuyen o mejoran la hepatotoxicidad y el estrés oxidativo (61, 73).

Receptores de glutamato en el hígado

Según se ha reportado, GMS logra un aumento en la expresión de receptores activados por proliferadores peroxisómicos alfa y gama (PPAR-alfa, PPAR-gama), producto del perfil inflamatorio que GMS induciría (19). Estos pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares hormonales que regulan el metabolismo de glucosa y lípidos, mejoran la resistencia a la insulina a través de la inhibición de citoquinas pro-inflamatorias y la estimulación de la adiponectina, lo que contribuye al aumento de la sensibilidad de la insulina (77).

Se han descrito tres isoformas alfa, beta/delta y gamma. PPAR-alfa tiene una alta distribución en hígado, riñón y músculo esquelético. Además, modula enzimas que intervienen en la oxidación de los ácidos grasos (77). PPAR-beta/delta tiene que ver con el desarrollo, implantación del embrión, mielinización del cuerpo calloso (77). PPAR-gamma se expresa principalmente en el tejido adiposo donde constituye un regulador principal de la diferenciación adipocitaria y participa en la homeostasis glucídica (77). Sin embargo, también se expresa en otros territorios como en el riñón y en los vasos sanguíneos por lo que se le ha supuesto un papel en la regulación del tono vascular. Algunas de las variantes alélicas y mutaciones caracterizadas en el gen PPAR-g humano se han asociado con la obesidad, la hipertensión arterial y la hipertensión arterial relacionada con la obesidad (77).

El rol del glutamato en el metabolismo hepático

El ácido glutámico o glutamato (en su forma ionizada) es metabolizado es su gran mayoría en el tracto gastrointestinal. Ahí en el intestino es donde cumple el rol como generador de ATP y precursor para la síntesis de glutatión, arginina y prolina. En este metabolismo intestinal se limita la absorción del glutamato de la dieta, incluso en ingestas excesivas (78).

El glutamato (GLU) remanente es liberado a la circulación portal para que una vez ingresado al hígado sea metabolizado de diversas maneras. El glutamato puede ser metabolizado a α -cetoglutarato por acción de la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH), para posteriormente transformarse en malato, metabolito intermediario de la gluconeogénesis. Además, los esqueletos carbonados del ácido glutámico también pueden ser oxidados por la vía catabólica para generar energía en forma de ATP y el nitrógeno remanente se utiliza en el ciclo de la urea.

Por lo anterior, una reacción importante en la regulación de este ciclo es la síntesis de N-acetilglutamato a partir de la condensación de acetyl-Coenzima-A y GLU por intermedio de la N-acetilglutamato sintasa. El N-acetilglutamato es considerado un activador alostérico de la carbamoil fosfato sintasa-1, enzima encargada de dar inicio al ciclo de la urea con la síntesis de carbamoil fosfato.

Adicionalmente, el GLU puede ser metabolizado por múltiples reacciones de transaminación, lo cual favorece la capacidad de sintetizar GLU en grandes cantidades a nivel intracelular. Esta “falta de esencialidad” lo convierte en un compuesto de vital importancia y esencial para la vida celular, ya que el GLU cumple una función primordial en el metabolismo hepático de los aminoácidos dando así origen a otros aminoácidos y regenerándose, a partir del catabolismo hepático de aminoácidos como arginina, ornitina, prolina, histidina y glutamina (79).

Relación GMS-obesidad y sus efectos en riñón e hígado

Como se muestra en la figura 2, en un estado alimentario la presencia de insulina estimula la secreción de leptina en los adipocitos. La cantidad de leptina secretada es proporcional a la cantidad de adipocitos presentes, a su vez este aumento de leptina inhibe la secreción de insulina, posterior a esto la leptina actúa en el núcleo arqueado que en condiciones normales la secreción de esta adipocina modula el peso corporal y apetito. Pero, en una situación donde se ve interrumpida su señalización por una destrucción del núcleo arqueado como se ha visto por el consumo de GMS se ve alterado el correcto funcionamiento del núcleo arqueado ya que provoca una alteración en sus funciones de manera tal que se provoca un incremento en los niveles de leptina y también altera la señalización de la insulina. Con el aumento de leptina se genera una resistencia a esta adipocina, provocando el efecto contrario que sería aumentar el proceso de lipogénesis para desarrollar con el tiempo una acumulación de grasa hasta provocar sobrepeso y posteriormente obesidad, además el aumento de tejido adiposo tiene relación con el aumento de citoquinas proinflamatorias. De lo anteriormente mencionado como ambas hormonas tanto leptina como insulina se regulan entre sí se produce la resistencia a la insulina. Al perder el balance entre estas hormonas se pierde el equilibrio en el metabolismo del ser humano y en consecuencia disminuye su sensibilidad, esta hormona es esencial y la principal en el metabolismo de la glucosa, dando paso al desarrollo de diabetes mellitus tipo II. Por otra parte, se tiene que el consumo de GMS genera la producción de orina álcali que conlleva al desarrollo de cálculos renales, produce un aumento en los niveles de algunas citoquinas que además como se mencionó también el tejido adiposo también produce aumento de ellas por lo que existiría un aumento considerable de estas que causan daño en el endotelio vascular lo que conlleva a generar hipertensión en el organismo, el daño también alteraría la vena central del hepatocito que en algunos casos se ha observado la dilatación de esta y hemorragia. A su vez el aumento de marcadores de estrés oxidativo producto del consumo de GMS conduce a un aumento en la lipoperoxidación, lo que también se puede producir mediante el previo aumento de citoquinas, todo lo que conlleva finalmente en fibrosis del hígado y riñón, daño que sostenido en el tiempo acaba desencadenando en complicaciones graves para ambos órganos.

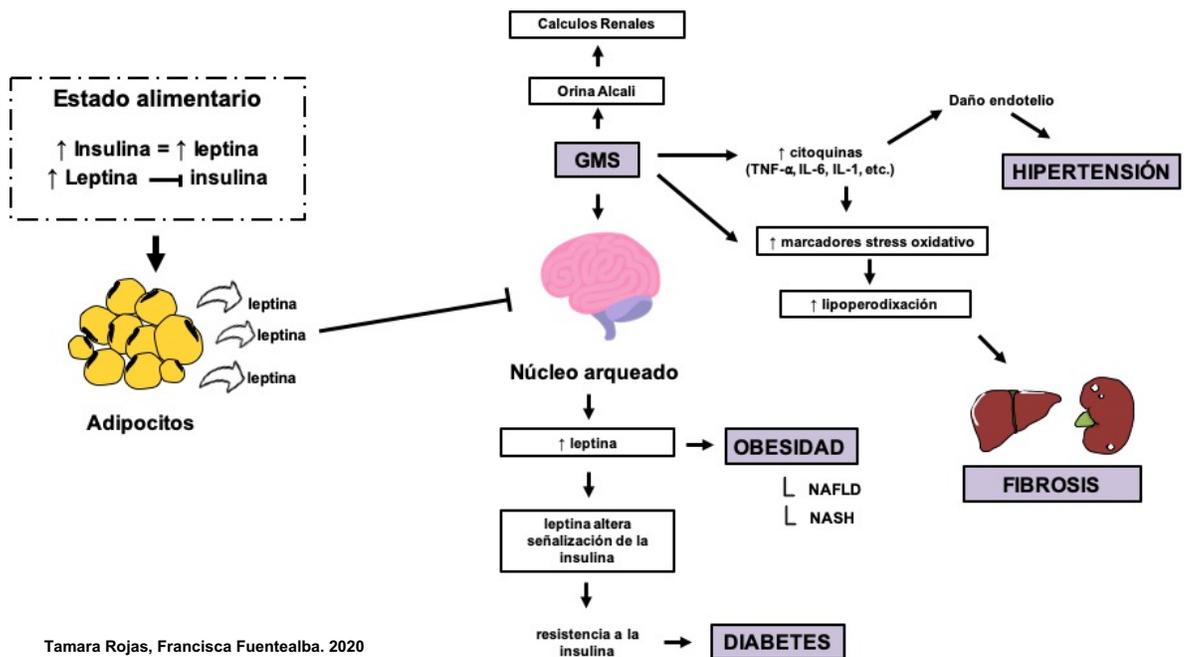


Figura 2: Mecanismo por el cual el GMS induce obesidad y otros efectos en riñón e hígado. El daño en el núcleo arqueado provocado por el consumo de GMS provoca la alteración hormonal que desencadena en la generación de obesidad y en otras complicaciones como hipertensión, hígado graso, fibrosis renal y hepática, cálculos renales y diabetes.

Tabla 2: Resumen de las investigaciones mencionadas

Año	Autor	Órgano estudiado	Principales hallazgos
1969	Olney JW, Sharpe LG.	Cerebro	La administración de GMS a monos Rhesus infantes provoca lesiones cerebrales en hipotálamo (región arcuada periventricular), degeneración neuronal, alteración en el patrón de la cromatina nuclear
1978	Takasaki Y.	Cerebro	Se observa el cambio patológico en el núcleo arqueado del hipotálamo.
1989	Olney JW.	Sistema nervioso central	Se describe el papel de neurotoxicidad que tiene el glutamato en el sistema nervioso central.
1996	Ahluwalia P, Tewari K, Choudhary P.	Eritrocitos	GMS aumentó el contenido de glucosa en glóbulos rojos, LPO, aumentó los niveles de glutatión, glutatión reductasa, glutatión S-transferasa y glutatión peroxidasa produciendo estrés oxidativo en los eritrocitos
1997	Dawson R, Pellemounter MA, Millard WJ, Liu S, Eppler B	Cerebro (Núcleo arqueado del hipotálamo)	El GMS provoca una atenuación de la respuesta de leptina debido al daño que provoca el GMS en el núcleo arqueado del hipotálamo.
2004	Diniz YS, Fernandes AAH, Campos KE, Mani F, Ribas BO, Novelli ELB.	Hígado	El efecto de una dieta hipercalórica administrada con GMS provocó alteraciones en el metabolismo de la glucosa y baja en los antioxidantes, induciendo estrés oxidativo en el tejido hepático.
2006	Ortiz GG, Bitzer-Quintero, Zarate CB,	Riñón e hígado de ratas Wistar	El daño producido por GMS fue degenerativo en ambos órganos. En el hígado se observó una inflamación, granulación citoplasmática fina,

	Rodríguez-Reynoso S, Larios-Arceo F, Velazquez-Brizuela IE, et al.		vesículas pequeñas, núcleos contraídos redondeados e hipercromáticos, cuerdas hepáticas interrumpidas, citoplasma hinchado aumento de vesículas. El riñón mostró células glomerulares con núcleo hipercromático, degeneración en el túbulo contorneado, necrosis. Incremento en la actividad de ASAT, ALAT y de los productos de lipoperoxidación (MAD, 4-HAD)
2006	Ferombi EO, Onyema OO	Hígado, riñones y cerebro de ratas	La administración simultánea de vitamina C, E y quercetina redujeron el aumento de MDA inducido por GMS. VIT E redujo de mejor manera la lipoperoxidación en hígado. VIT C y quercetina tienen mejor rol protector sobre el cerebro. Los 3 antioxidantes fueron efectivos para proteger contra el estrés oxidativo inducido por GMS.
2006	Waer HF, Edress S	Hígado de ratas Albino	Se investigó la toxicidad de GMS y también el efecto de GES (ácido guanidino etanosulfónico) en las ratas tratadas con GMS. En primer lugar, se observó anomalías en la arquitectura del hígado, hemorragia, áreas necróticas con vacuolaciones, congestión en la vena central, con un endotelio alterado invadido por linfocitos y células inflamatorias, núcleo atrofiados. En segundo lugar, al combinar GMS con GES se observó una atenuación en la toxicidad producida por GMS.
2006	Onyema OO, Farombi EO, Emerole GO,	Hígado	GMS coadministrado con VIT E redujo la LPO, aumentó el nivel de GSH, disminuyó las actividades de GST, catalasa, SOD, ALT, AST y

	Ukoha AI, Onyeze GO.		GGT. La VIT E mejoró el estrés oxidativo y hepatotoxicidad inducido por GMS
2008	Nakanishi Y, Tsuneyama K, Fujimoto M, Salunga TL, Nomoto K, An JL, et al.	Hígado	Los ratones tratados con GMS desarrollaron NAFLD y NASH (a los 6 y 12 meses respectivamente). Además, se detectaron lesiones nodulares displásicas en el parénquima hepático.
2011	Bhattacharya T, Bhakta A, Ghosh SK	Hígado en ratones	Cambios en el parénquima hepático (alteración de la membrana celular, células inflamatorias alrededor de la vena central, núcleos picnóticos, aumento de vacuolaciones en el citoplasma, sinusoides más dilatados, mayor número aparente de células de Kupffer).
2011	Eweka A, Igbigbi P, Ucheya R	Hígado de ratas Wistar	En la histología hepática se observó dilatación de la vena central con contenido de glóbulos rojos lisados, cambios en la arquitectura de los hepatocitos, necrosis y hemorragia centrolobulillar, aumento de las enzimas hepáticas como respuesta al daño degenerativo y atrófico del hígado.
2012	Paul MV, Abhilash M, Varghese MV, Alex M, Nair RH	Riñón	Se observaron glomérulos congestionados, hinchazón tubular, congestión capilar y microhemorragias áreas estromales de los túbulos en los ratas tratados con GMS. Al administrar GMS en conjunto con alfa-tocoferol se logró modular y mantener la arquitectura normal del tejido renal ya que logra reducir el estrés oxidativo producido por GMS (rol protector contra la nefrotoxicidad)
2012	Said Tawfik M, Al-Badr N	Hígado y riñón en	El peso corporal, la actividad de enzimas hepáticas de las ratas aumentó. También aumentó

		ratas Albino	la urea y creatinina sérica en presencia de GMS. La VIT C y VIT E disminuyeron las actividades de las enzimas hepáticas, así como también la urea y creatinina, por lo que restauran y protegen las funciones renales y hepáticas producidas por el estrés oxidativo.
2013	Sharma A, Prasongwattana V, Cha'on U, Selmi C, Hipkaeo W, Boonnate P, et al.	Riñón de ratas Wistar	Ratas tratadas con GMS estuvieron más propensas a desarrollar urolitiasis e hidronefrosis. Además, presentaron niveles de creatina sérica y potasio elevados. Producción de orina, excreción de sodio y citrato alta. Excretaron menos amonio y magnesio.
2013	El-Meghawry El-Kenawy A, Osman HEH, Daghestani MH.	Hígado	Efecto protector de la VIT C en daño hepático por GMS. Se visualizó dilatación de la vena central, alteración de arquitectura en hepatocitos, citoplasma vacuolado, mitocondrias inflamadas, núcleos picnóticos, RER vesiculado. Variación de la expresión de ki-57 y p53. La VIT C logró mejoras en la arquitectura del hígado
2014	Sharma A, Wongkam C, Prgasongwattana V. Boonate P, Thanan R, Reungjui S, et al.	Riñón de ratas Wistar	Análisis proteómico del riñón de ratas expuestas crónicamente a GMS. Se observó la presencia 8 proteínas: glutatión S-transferasa, fosferina fosfatasa, fosfoglicerato quinasa, glicerol-3-fosfato deshidrogenasa, 2-amino-3-carboxifucinato-6-semialdehído decarboxilaseado, α -cetogluturato deshidrogenasa, succinil-CoA ligasa y choque térmico asociado a proteína de 71 kDa. Estas proteínas indican estrés oxidativo y que también se relacionan con el metabolismo.

2016	Belemets N, Kobyliak N, Tsyryuk O, Kuryk O, Falalyeyeva T.	Hígado	Tras 4 meses de exponer a las ratas a GMS se observó un aumento en la masa corporal. En el análisis histológico se confirmó el desarrollo de una NAFLD, evidencia de esteatosis, inflamación lobular, degeneración del tejido hepático, vacuolaciones, dilatación de venas intralobulares, infiltración linfoide, presencia de macrófagos.
2017	El-Atrash A, Zaki S, Tousson E, Shoir MA	Hígado	La semilla de uva coadministrada con GMS logra modular la hepatotoxicidad, estrés oxidativo y daño hepático.
2017	Elshafey M, Eladl MA, El-Sherbiny M, Atef H, El Morsi DA.	Hígado	El GMS mostró esteatosis hepática macrocircular, fibrosis alrededor de la vena central con extensión hacia las paredes sinusoidales. Reducción de las enzimas antioxidantes, aumento de LPO.
2017	Contini MDC, Fabro A, Millen N, Benmelej A, Mahieu S.	Riñón de ratas Wistar	Ratas tratadas con GMS mostraron alza de presión similar a ratas tratadas con NaCl. Además, se observaron alteraciones histológicas tanto a nivel glomerular como tubular, especialmente fibrosis intersticial con acumulación de células mononucleares. Lo que indicaría que la adición de GMS en la dieta disminuye la excreción de sodio, potasio y agua.
2018	Saikrishna K, Kumari R, Chaitanya K, Biswas S, Nayak PG, Mudgal J, et al.	Varios	La dieta alta en azúcares en combinación con GMS induce DM tipo II, disfunción del endotelio y deterioro de la memoria en ratas (produjo en ellas aumento de peso, hiperglucemia, dislipidemia e hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, hipertensión, nefropatía y demencia). En la histología se encontraron con pérdida neuronal, cuerpos necróticos en cerebro,

			reducción del recuento glomerular, hipertrofia e hiperplasia en los islotes de Langerhans.
2018	Ishaque MRM, Abbasi P, Talpur M, Ahmed T, Hussain A, Arsalan M, et al	Hígado en ratas Albino Wistar	Se observa congestión de la vena central, necrosis hemorrágica centrilobular, infiltración leucocitaria en ratas tratadas con GMS. Al administrar Ginkgo biloba se observa un efecto hepatoprotector sobre el hígado.
2018	Albrahim T, Binobead MA.	Hígado	<i>Moringa oleífera</i> (MLE) mejora la toxicidad hepática, estrés oxidativo, genotoxicidad al administrarse en conjunto con GMS.
2019	Araujo, TR, da Silva JA, Vettorazzi, JF, Freitas IN, Lubaczeuski, C	-	A los 90 días los ratones con obesidad producida por GMS desarrollaron una hiperglicemia, hiperinsulinemia, e hiperglucagonemia. Además, al momento de alimentarse perdieron la capacidad de aumentar la relación insulina/glucagón.
2019	Othman SI, Bin-Jumah M.	Hígado y riñones en ratones	Se produjo un aumento de peso y tejido graso en ratones expuestos a GMS. En hígado hubo alteraciones leves en arquitectura, áreas necróticas con vacuolaciones, dilatación y congestión de la vena central con alteración en endotelio, infiltración de células inflamatorias y hemorragia. En riñón se observaron glomérulos con estrechamiento en la cavidad, congestión, contracción, hemorragia, desaparición e hinchazón de la mayoría de los túbulos.
2019	Coelho CFF, França LM, Nascimento JR, Dos Santos AM, Azevedo-Santos APS,	Hígado	Caracterizan metabólica e histopatológicamente NAFLD y su progresión a NASH en ratones expuestos a GMS. Se presentó hipertrigliceridemia y obesidad, resistencia a la insulina. Esteatosis microvesicular en ratones de 60 días, la cual evolucionó a NASH a los 4

	Nascimento FRF, et al.		meses. NAFLD es una consecuencia precoz de ratones obesos inducidos por GMS.
2019	Eid, R. A, Dallak. M, Al- Sharaim. M, Ellatif M.A, Al- Ani. R, Kamar S., Nehm. S, Haidara M. A.	Riñón	Se comprobó la hipótesis de que la vitamina E en altas dosis puede cumplir un rol de protección sustancial contra lesiones renales, así como reducir los altos niveles de urea y creatinina, en modelos de ratas con daños renales inducidos por dosis tóxicas de GMS.

CONCLUSIÓN

Aunque por años el GMS ha sido conocido por sus propiedades útiles en la industria alimenticia siendo utilizado principalmente como realzador del sabor, es de gran importancia tener en cuenta todos los estudios que durante décadas han ido demostrando las múltiples y variadas consecuencias desfavorables de su consumo en exceso para diferentes órganos pudiendo así afectar el funcionamiento general de nuestro organismo.

Las consecuencias negativas de su excesivo uso se han visto analizadas en distintas investigaciones con el pasar de los años, en estas se hace especial énfasis en la afectación a múltiples órganos que terminan por afectar en gran parte el funcionamiento óptimo de ellos, provocando distintas alteraciones como obesidad, diabetes, hipertensión, enfermedades cardiovasculares, problemas en órganos reproductivos, daños renales y hepáticos que conllevan a una calidad de vida notoriamente disminuida ya que con el paso del tiempo pueden llegar a agravar la situación hasta producir la fibrosis del órgano comprometido y por ende, que se produzca una falla orgánica.

La cantidad de alimentos o ingredientes que se encuentran disponibles en el mercado y que a su vez contienen GMS o alguno de sus derivados como se indicó en la tabla 1 es bastante considerable, y como se han descrito sus potenciales efectos negativos en el organismo pueden ser variados, todos estos en si desencadenando en fallas en la funcionalidad normal de órganos como hígado y riñón dada a la toxicidad que produce el GMS, el que se consume de forma indiscriminada por la población sin conocer en profundidad sus efectos y consecuencias a largo plazo.

La relación que se ha visto descrita entre el consumo de GMS y el desarrollo de trastornos metabólicos como la obesidad es variada en la literatura. Con el aumento de peso aumentan las posibilidades de adquirir patologías cardíacas, trastornos en el aparato locomotor y el desarrollo de cánceres, lo que a su vez se relaciona con la alteración de parámetros bioquímicos que se produce respecto del consumo en exceso del GMS. Algunos de los parámetros que mayoritariamente se ven alterados son los niveles de colesterol total, triglicéridos, LDLc y HDLc, junto con esto también existe la retención de potasio, sodio y agua lo que se podría relacionar al aumento de presión sanguínea. Es importante mencionar también que parte de lo mencionado anteriormente se ha probado al estudiar ratones obesos que fueron tratados con GMS los que desarrollaron hiperglucemia, hiperinsulinemia e hiperglucagonemia, demostrando así el rol que juega el GMS en la alteración de los parámetros bioquímicos y con ello el desarrollo de trastornos metabólicos.

Sobre las alteraciones morfológicas en ambos órganos, estas se deben principalmente a la toxicidad producida por el consumo de GMS que favorece el desarrollo de otras patologías de alta prevalencia en nuestro país. Es así como, el desarrollo de hipertensión se puede relacionar con el estrés oxidativo que ocurre con la ingesta de GMS. Según lo que se analizó en los diferentes estudios durante este proceso se genera un aumento de citoquinas, radicales libres y moléculas relacionadas con la lipoperoxidación generando un daño en el endotelio vascular que finalmente acaba provocando un aumento en la presión arterial.

Se han visto cambios en la morfología del riñón y el hígado llevando a la deformación del parénquima de ambos órganos. En primer lugar, con respecto al riñón se ha visto que el GMS ha sido capaz de inducir cambios en diversas partes de la estructura renal, produciendo principalmente hiper celularidad en el órgano. En el glomérulo renal se ha visto que ocurre la infiltración de células de tipo inflamatorio incluso acompañado de edema en los túbulos renales. Además de esto se ha visto que la toxicidad que esta sustancia produce en el riñón se ha asociado a lesiones tubulointersticiales, atrofia local, descamación celular, fibrosis de

la cápsula de Bowman, entre otros. Todo esto tiene un rol fundamental en la pérdida del correcto funcionamiento de absorción y secreción que tiene el riñón por lo que a largo plazo se ha visto que esta disfunción celular desencadenaría en procesos patológicos como la insuficiencia renal aguda o crónica. Sobre los cambios morfológicos que ocurren a nivel hepático se ha descrito principalmente que ocurren fenómenos como inflamación, dilatación, hemorragia o agrandamiento de la vena central, con áreas necróticas, vacuolaciones, glóbulos rojos lisados y/o infiltración de células inflamatorias junto con gránulos de glicógeno y acumulación de gotas de grasa. Además de lo mencionado cabe destacar que lo anterior se ha visto relacionado con alteraciones a nivel pancreático, específicamente a nivel de los islotes de Langerhans, en donde estos sufren tanto hiperplasia como hipertrofia. Por lo demás se informa que incluso a concentraciones pequeñas el GMS es capaz de causar alteraciones en el peso corporal y las funciones del hígado.

En cuanto a las alteraciones metabólicas, con respecto al riñón se ha visto descrito que la cadena transportadora de electrones parece ser la principal fuente de producción de especies reactivas del oxígeno frente a la toxicidad que produce la metabolización del glutamato proveniente del GMS, con el aumento de glutamato extracelular aumenta a su vez más la formación de radicales libres, incrementando así el daño en el tejido renal que al ir perdiendo su función y barreras de defensa no es capaz de contrarrestar sus efectos, también producto de lo anterior se han visto descrito aumento de la actividad de la alfa cetoglutarato deshidrogenasa y gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa, ambos asociados a la sobre producción de especies reactivas del oxígeno. Igualmente, otro de los mecanismos que se ha revisado es el que tiene relación con el receptor NMDA, este al estimularse excesivamente o bloquearse daría como resultado la muerte celular, mediante el cambio en la dinámica iónica, que provocaría la generación de radicales libres y la lipoperoxidación, que desencadena en daño de las células renales. Por otro lado, en el tejido hepático, es que cuando hay una disminución en la tasa de oxidación de ácidos grasos se produce esta acumulación y depósito de grasa en el hígado (esteatosis), que a la larga da paso a la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) donde existe un aumento en las transaminasas (ASAT y ALAT) tal como se ha visto en los estudios asociados al hígado que también se observa con una progresión

de la enfermedad en el tiempo como la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) donde se genera la inflamación y daño a los hepatocitos (“ballooning”), dilatación de las venas intralobulares, con infiltración de células linfoides y macrófagos.

Con respecto a la observación en el aumento del estrés oxidativo que se da en ambos órganos asociado a su administración de GMS, sobre el riñón la formación de especies reactivas del oxígeno que se da producto de la exposición de GMS ha resultado ser una de las principales razones por las que se desarrollan los efectos nefrotóxicos, de esta manera se ha visto afectado el sistema antioxidante renal y junto a esto bajos niveles de superóxido dismutasa, catalasa, glutatión y MDA, es por esto que, se entiende que los antioxidantes endógenos no sean capaces de contra restar los efectos nefrotóxicos que produce la acumulación de radicales libres que ocurre con la presencia de esta sustancia en el riñón. Sobre el hígado al igual que en el tejido renal se ve que los marcadores de estrés oxidativo se ven alterados produciendo un efecto similar en cuanto a su toxicidad y por consecuencia daño en el tejido hepático, además de esto se ha visto que el GMS induce alteraciones en la tasa metabólica de utilización de glucosa junto a disminuir las defensas antioxidantes que tiene el órgano, por lo que este cambio que se produce por la administración de GMS junto a la ingesta de una dieta hipercalórica es lo que se asocia al estrés oxidativo en el tejido hepático. Además, por el aumento de la lipoperoxidación en conjunto con la baja en los mecanismos antioxidantes, se sugiere mitigar el daño con el consumo de antioxidantes adicionales en la dieta, como lo son la vitamina A, vitamina E, vitamina C y quercetina además de la *Moringa oleífera* (MLE), una planta que parece al menos mejorar la toxicidad hepática.

Más allá, sobre los efectos antioxidantes y antiinflamatorios, una de las sustancias que se ha visto que ha tenido mayores efectos positivos frente al daño producido por el estrés oxidativo descrito es la vitamina E, en el riñón desacelera el desarrollo hacia las insuficiencias renales producidas por estrés oxidativo, baja en parte el aumento de la presión

arterial asociada a insuficiencia renal y previene lesiones del tipo agudas. En el hígado también se reportaron efectos de mejora en la sintomatología de patologías como hígado graso no alcohólico, esteatohepatitis no alcohólica, fibrosis hepática e inflamación hepatocelular inducidas por estrés oxidativo, por lo que esta vitamina demuestra su rol protector frente a este tipo de alteraciones en ambos órganos.

Asimismo, se demuestra en diferentes estudios que el estrés oxidativo ha demostrado tener un rol fundamental en el desarrollo de la fibrosis del tejido tanto renal como hepático. En el tejido renal, nefropatías de tipo obstructivo se han desarrollado posterior a la ingesta de GMS, lo que se ha visto que ocurre por la orina altamente alcalina y la formación de cálculos renales, además de lo anterior también se vio el desarrollo de hidronefrosis con cambios en la estructura renal y con ello un aumento considerable de citoquinas proinflamatorias, todo esto al obstaculizar la salida de orina termina siendo una de las razones de la atrofia progresiva de la función excretora del riñón. Mientras que lo que se produce en el tejido hepático es el conocido hígado graso, que cuando existe una condición de daño e inflamación prolongado se manifiesta con el tiempo en lo que es una cicatriz fibrosa del tejido hepático en reemplazo de los hepatocitos dañados, por lo que con este reemplazo de tejido se logra una disminución del flujo sanguíneo y aumento del tejido cicatricial tal que con la inflamación y fibrosis progresiva se llega a una cirrosis y posterior hepatocarcinoma, condición que suele ser irreversible.

Uno de los mecanismos de acción del GMS que se ha visto descrito en más detalle, es la destrucción del núcleo arqueado en el hipotálamo, lo que provoca el bloqueo de la acción de la leptina e insulina con aumento de las resistencias de estas señalizaciones desencadenando una cascada de reacciones adversas como lo es el desarrollo de la obesidad que se conoce como factor de riesgo de algunas de las complicaciones antes descritas. Cuando existe este consumo de glutamato por el organismo y debido a que no es un aminoácido esencial y que el organismo también lo sintetiza es que se produce un aumento en los niveles extracelulares,

provocando la sobreexcitación de los receptores de glutamato NMDA y aumento de la expresión de receptores encargados del metabolismo de glucosa y lípidos como PPAR (alfa y gama) debido al estado inflamatorio que GMS induce. Por otra parte, también es importante mencionar que el consumo de GMS no solo afecta a los órganos analizados en este estudio ya que desde hace varias décadas algunos estudios relacionan el consumo de glutamato con la generación de enfermedades neurodegenerativas.

Todos los efectos en riñón e hígado encontrados en diferentes estudios a lo largo de las décadas evidencian que el consumo de GMS demuestra ser nocivo tanto en la morfología como función de ambos órganos, afectándolos de manera estructural y con ello sus funciones normales en el organismo, lo que desencadena en diferentes patologías las que comprometen en gran parte el estado general de los sistemas renales y hepáticos. Sin embargo, también es de importancia mencionar la relevancia del daño provocado por GMS que se ha observado a nivel cerebral, específicamente a nivel hipotalámico, el cual es clave en muchas recepciones de señalizaciones de gran importancia en el metabolismo relacionándose por ello con el riñón e hígado. Por todo lo anteriormente descrito sería muy necesario limitar el uso del GMS en la industria alimenticia, que si bien puede ser difícil de erradicar su consumo por completo ya que se presenta en productos de consumo diario, como caldos, maicena, levadura, galletas y mayoritariamente todos aquellos productos preparados, su uso indiscriminado a largo plazo ha demostrado que genera grandes daños en hígado y riñón, ambos al estar encargados de la metabolización y excreción de metabolitos que se relacionan con la homeostasis del organismo, por lo que al verse alterada su función y estructura provocan desórdenes de diferentes tipos, junto a esto al provocarse la alteración del metabolismo aumentan los factores de riesgo para desarrollar obesidad, que es conocida por ser una de los mayores predisponentes a padecer otras enfermedades ya mencionadas anteriormente, empeorando de esta manera en gran medida la calidad de vida de las personas que consumen este aditivo alimenticio sin medida alguna, ya que podrían llegar a desarrollar varias de las complicaciones metabólicas vistas a lo largo de esta revisión.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bhattacharya T, Bhakta A, Ghosh SK. Long term effect of monosodium glutamate in liver of albino mice after neo-natal exposure. *Nepal Medical College journal : NMCJ*. 2011;13(1):11-6.
2. Loureiro C, Martínez-Aguayo A, Campino C, Carvajal C, Fardella C, García H. Esteatosis Hepática: ¿preludio de diabetes tipo 2 en población pediátrica? *Nutrición Hospitalaria*. 2014;29:350-8.
3. Maluly HDB, Ariseto-Bragotto AP, Reyes FGR. Monosodium glutamate as a tool to reduce sodium in foodstuffs: Technological and safety aspects. *Food science & nutrition*. 2017;5(6):1039-48.
4. Beyreuther L, Bielsalski HK, Fernstrom J, Grimm P, Hammes WP, Heinemann U, Stehle P, Steinhart H, Walker R. Consensus meeting; monosodium glutamate- an update. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2007;61(3):304-313
5. Niaz K, Zaplatic E, Spoor J. Extensive use of monosodium glutamate: A threat to public health?. *EXCLI Journal*. 2018;17:273-278.
6. ¿Qué es el GMS? (Glutamato monosódico) [Internet]. Grupo Ajinomoto Global Website - Comer Bien, Vivir Bien. 2019 [cited 7 July 2020]. Available from: https://www.ajinomoto.com/es/aboutus/umami/what_is_msg
7. Albarracín SL, Baldeón ME, Sangronis E, Cucufate Petruschina A, Reyes FGR. L-Glutamato: un aminoácido clave para las funciones sensoriales y metabólicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2016;66:101-12.
8. Brenner G, Stevens C. *Farmacología básica*, quinta edición. 5th ed. Barcelona: Elsevier España; 2019.
9. Imam, R. Genotoxicity of Monosodium Glutamate: A Review on its Causes, Consequences and Prevention. *INDIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL EDUCATION AND RESEARCH*. 2019;53(4), 510-517.
10. Luján R. Bases moleculares de la señalización neuronal. *Ciencia al día internacional*. 2004 5(2)
11. Kinnamon SC. Umami taste transduction mechanisms. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2009;90(3):753S-5S.

12. OECD. Obesity update 2018 [cited 4 August 2020] Available from: <https://www.oecd.org/health/obesity-update.htm>.
13. OMS. Obesidad y sobrepeso 2020 [cited 4 August 2020]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
14. Malo-Serrano M, Castillo M N, Pajita D D. La obesidad en el mundo. Anales de la Facultad de Medicina. 2017;78:173-8.
15. Junaeb. Mapa nutricional 2019 [cited 4 August 2020] [Presentación resultados MN 2019]. Available from: <https://www.junaeb.cl/mapa-nutricional>.
16. Pajuelo Ramírez J, Torres Aparcana L, Agüero Zamora R, Bernui Leo I. El sobrepeso, la obesidad y la obesidad abdominal en la población adulta del Perú. Anales de la Facultad de Medicina. 2019;80:21-7.
17. Olney JW. Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. Science. 1969;164(3880):719-21.
18. Olney JW, Sharpe LG. Brain lesions in an infant rhesus monkey treated with monosodium glutamate. Science. 1969;166(3903):386-8.
19. Roman-Ramos R, Almanza-Perez JC, Garcia-Macedo R, Blancas-Flores G, Fortis-Barrera A, Jasso EI, et al. Monosodium glutamate neonatal intoxication associated with obesity in adult stage is characterized by chronic inflammation and increased mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptors in mice. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2011;108(6):406-13.
20. Wang Z, Zhang J, Wu P, Luo S, Li J, Wang Q, et al. Effects of oral monosodium glutamate administration on serum metabolomics of suckling piglets. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2020;104(1):269-79.
21. Bertrand G, Gross R, Puech R, Loubatières-Mariani MM, Bockaert J. Evidence for a glutamate receptor of the AMPA subtype which mediates insulin release from rat perfused pancreas. British journal of pharmacology. 1992;106(2):354-9

22. Almanza-Pérez JC, Blancas-Flores G, García-Macedo R, y Miguel FJA-A. Leptina y su relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2. *J. Gaceta medica de Mexico*. 2008;144(6):535-42.
23. Botella Carretero JJ, Lledín Barbancho MD, Valero González Ma, Varela DaCosta C. Leptina: implicaciones fisiológicas y clínicas. *Anales de Medicina Interna*. 2001;18:48-56.
24. Brabant G, Müller G, Horn R, Anderwald C, Roden M, Nave H. Hepatic leptin signaling in obesity. *Faseb j*. 2005;19(8):1048-50.
25. Hermanussen M, García AP, Sunder M, Voigt M, Salazar V, Tresguerres JA. Obesity, voracity and short stature: the impact of glutamate on the regulation of appetite. *Eur J Clin Nutr*. 2006 Jan;60(1)25-31.
26. Granholm AC, Bimonte-Nelson HA, Moore AB, Nelson ME, Freeman LR, Sambamurti K. Effects of a saturated fat and high cholesterol diet on memory and hippocampal morphology in the middle-aged rat. *J Alzheimers Dis*. 2008;14(2):133-45.
27. Kondro M, Mykhalchyshyn G, Bodnar P, Kobylak N, Falalyeyeva T. Metabolic profile and morpho-functional state of the liver in rats with glutamate-induced obesity. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2013;26(4):379-81.
28. Dawson R, Pellemounter MA, Millard WJ, Liu S, Eppler B. Attenuation of leptin-mediated effects by monosodium glutamate-induced arcuate nucleus damage. *Am J Physiol*. 1997;273(1 Pt 1):E202-6.
29. Araujo TR, da Silva JA, Vettorazzi JF, Freitas IN, Lubaczeuski C, Magalhaes EA, et al. Glucose intolerance in monosodium glutamate obesity is linked to hyperglucagonemia and insulin resistance in alpha cells. *J Cell Physiol*. 2019;234(5):7019-31
30. Saikrishna K, Kumari R, Chaitanya K, Biswas S, Nayak PG, Mudgal J, et al. Combined administration of monosodium glutamate and high sucrose diet accelerates the induction of type 2 diabetes, vascular dysfunction, and memory impairment in rats. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*. 2018;37(1):63-80.

31. Contini MDC, Fabro A, Millen N, Benmelej A, Mahieu S. Adverse effects in kidney function, antioxidant systems and histopathology in rats receiving monosodium glutamate diet. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2017;69(7):547-556.
32. Nelson D, Cox M. *Lehninger principles of biochemistry*. 5th ed. España; 2009
33. Pfaller W, Gstraunthaler G, Willinger CC. Morphology of renal tubular damage from nephrotoxins. *Toxicol Lett*. 1990;53(1-2):29-43.
34. Paul MV, Abhilash M, Varghese MV, Alex M, Nair RH. Protective effects of alphatocopherol against oxidative stress related to nephrotoxicity by monosodium glutamate in rats. *Toxicol Mech Methods*. 2012;22(8):625-30.
35. Ortiz GG, Bitzer-Quintero, Zarate CB, Rodriguez-Reynoso S, Larios-Arceo F, Velazquez-Brizuela IE, et al. Monosodium glutamate-induced damage in liver and kidney: a morphological and biochemical approach. *Biomed Pharmacother*. 2006;60(2):86-91.
36. Sharma A, Prasongwattana V, Cha'on U, Selmi C, Hipkaso W, Boonnate P, et al. Monosodium glutamate (MSG) consumption is associated with urolithiasis and urinary tract obstruction in rats. *PLoS One*. 2013;8(9):e755546.
37. Sharma A, Wongkam C, Prgasongwattana V. Boonnate P, Thanan R, Reungjui S, et al. Proteomic analysis of kidney in rats chronically exposed to monosodium glutamate. *PLoS One*. 2014;9(12).
38. Ferombi EO, Onyema OO. Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin. *Hum Exp Toxicol*. 2006;25(5):251-9.
39. Penugonda S, Ercal N. Comparative evaluation of N-acetylcysteine (NAC) and Nacetylcysteine amide (NACA) on glutamate and lead-induced toxicity in CD-1 mice. *Toxicol Lett*. 2011;201:1-7.
40. Ribeiro G, Roehrs M, Bairros A, Moro A, Charao M, Araujo F, et al. N-acetylcysteine on oxidative damage in diabetic rats. *Drug Chem Toxicol*. 2011;34(4):467-74.
41. Vercoutère B, Durozard D, Baverel G, Martin G. Complexity of glutamine metabolism in kidney tubules from fed and fasted rats. *Biochem J*. 2004;378(Pt2):485-95.
42. Avendano H. *Nefrologia Clinica*. Editorial Medica Panamericana, 3° edición, 2008.
43. Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*. 1993;262(5134):689-95.

44. Yang CS, Tsai PJ, Lin NN, Liu L, Kuo JS. Elevated extracellular glutamate levels increased the formation of hydroxyl radical in the striatum of anesthetized rat. *Free Radic Biol Med.* 1995;19(4):453-9.
45. Zundorf G, Kahlert S, Bunik V, Reiser G. Alpha-ketoglutarate dehydrogenase contributes to production of reactive oxygen species in glutamate-stimulated hippocampal neurons in situ. *Neuroscience.* 2009;158(2):610-6.
46. Tretter L, Adam-Vizi V. Alpha-ketoglutarate dehydrogenase: a target and generator of oxidative stress. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2005;360(1464):2335-45.
47. Leung JC, Marphis T, Craver RD, Silverstein DM. Altered NMDA receptor expression in renal toxicity: Protection with a receptor antagonist. *Kidney Int.* 2004;66(1):167-76.
48. Leung JC, Ragland N, Marphis T, Silverstein DM. NMDA agonists and antagonists induce renal culture cell toxicity. *Med Chem.* 2008;4(6):565-71.
49. Kim JY, Kanai Y, Chairoungdua A, Cha SH, Matsuo H, Kim DK, et al. Human cysteine/glutamate transporter: cDNA cloning and upregulation by oxidative stress in glioma cells. *Biochim Biophys Acta.* 2001;1512(2):335-44.
50. Burdo J, Dargusch R, Schubert D. Distribution of the cysteine/glutamate antiporter system xc⁻ in the brain, kidney and duodenum. *J Histochem Cytochem.* 2006;54(5):549-57.
51. Foreman JW, McNamara PD, Bowring MA, Lee J, Rea C, Segal S. Cysteine-glutamate transport interactions in rat renal cortical tubules, brushborder vesicles, and cultured renal tubule cells. *Biosci Rep.* 1986;6(1):113-9.
52. Murphy TH, Miyamoto M, Sastre A, Schnaar RL, Coyle JT. Glutamate toxicity in a neuronal cell line involves inhibition of cysteine transport leading to oxidative stress. *Neuron.* 1989;2(6)
53. Starkov AA, Fiskum G, Chinopoulos C, Lorenzo BJ, Browne Se, Patel MS, et al. Mitochondrial alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex generates reactive oxygen species. *J Neurosci.* 2004;24(36):7779-88.
54. Bunik VI. 2-Oxo acid dehydrogenase complexes in redox regulation. *Eur J Biochem.* 2003;270(6):1036-42.
55. Chan PC, Bielski BH. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-catalyzed chain oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide by perhydroxyl radicals. *J Biol Chem.* 1980;255(3):874-6.

56. Cho, M. G.; Kim, S. N. M Park, H. W. M, Chung, S, Kim, S. Could vitamin E prevent contrast-induced acute kidney injury? A systematic review and meta-analysis. *J. Korean Med. Sci.*, 32(9):1468-73,2017.
57. Eid, R.A.; Dallak, M.; Al-Shraim, M.; Ellatif, A.; Al-Ani, R.; Kamar, S. S; Negm. S, Haidara, M. A. Suppression of monosodium glutamate-induced acute kidney injury and renal ultrastructural damage in rats by vitamin E. *Int. J. Morphol.*, 37(4):1335-1341,2019.
58. Onyema, O. O.; Farombi E, E. O.M Emerole, G. O.; Ukoha, A.I, Onyeze, G. Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Indian J. Biochem. Biophys.*, 43(1):20-4,2006
59. Zamin I. JR.; Mattos, A. A.; Matoos, A. Z.; Coral, G.; Santos, D., Rhoden C. The vitamin E reduces liver lipoperoxidation and fibrosis in a model of nonalcoholic steatohepatitis. *Arq. Gastroenterol.*, 47(1):86-92,2010
60. Eweka A, Igbigbi P, Ucheya R. Histochemical studies of the effects of monosodium glutamate on the liver of adult wistar rats. *Annals of medical and health sciences research*. 2011;1(1):21-9.
61. Waer HF, Edress S. The Effect of Monosodium Glutamate (MSG) On Rat Liver And The Ameliorating Effect Of “Guanidino Ethane Sulfonic acid (GES)” (Histological, Histochemical and Electron Microscopy Studies). *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2006;24(1):524-38.
62. Othman SI, Bin-Jumah M. Histomorphological Changes in Mono-sodium Glutamate Induced Hepato-renal Toxicity in Mice. *International Journal of Pharmacology*. 2019;15(4):449-56.
63. Ishaque MRM, Abbasi P, Talpur M, Ahmed T, Hussain A, Arsalan M, et al. Hepatic changes in liver of albino rats induced by monosodium glutamate and hepatoprotective role of ginkgo biloba. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018;5(11):12029-35.
64. Said Tawfik M, Al-Badr N. 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*. 2012;03:651-9.
65. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology*. 2010;51(2):679-89.

66. Nakanishi Y, Tsuneyama K, Fujimoto M, Salunga TL, Nomoto K, An JL, et al. Monosodium glutamate (MSG): A villain and promoter of liver inflammation and dysplasia. *Journal of Autoimmunity*. 2008;30(1-2):42-50.
67. Coelho CFF, França LM, Nascimento JR, Dos Santos AM, Azevedo-Santos APS, Nascimento FRF, et al. Early onset and progression of non-alcoholic fatty liver disease in young monosodium l-glutamate-induced obese mice. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*. 2019;10(2):188-95.
68. Belemets N, Kobylak N, Tsyryuk O, Kuryk O, Falalyeyeva T. Histopathological analysis of liver tissue in monosodium glutamate-induced obese rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2016;7(6):1823-8.
69. Zanfirescu A, Ungurianu A, Tsatsakis AM, Nitulescu GM, Kouretas D, Veskokoukis A, et al. A Review of the Alleged Health Hazards of Monosodium Glutamate. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019;18(4):1111-34.
70. Takasaki Y. Studies on brain lesions after administration of monosodium L-glutamate to mice. II. Absence of brain damage following administration of monosodium L-glutamate in the diet. *Toxicology*. 1978;9(4):307-18.
71. Diniz YS, Fernandes AAH, Campos KE, Mani F, Ribas BO, Novelli ELB. Toxicity of hypercaloric diet and monosodium glutamate: oxidative stress and metabolic shifting in hepatic tissue. *Food and Chemical Toxicology*. 2004;42(2):313-9.
72. El-Atrash A, Zaki S, Tousson E, Shoir MA. Protective potential of grape seed extract against monosodium glutamate induced liver toxicity and oxidative stress in young rats. *Journal of Advanced Trends in Basic and Applied Science Vol. 1, No. 3: 257-262*, 2017.
73. Albrahim T, Binobead MA. Roles of Moringa oleifera Leaf Extract in Improving the Impact of High Dietary Intake of Monosodium Glutamate-Induced Liver Toxicity, Oxidative Stress, Genotoxicity, DNA Damage, and PCNA Alterations in Male Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018;2018:11.
74. Elshafey M, Eladl MA, El-Sherbiny M, Atef H, El Morsi DA. Hepatotoxicity of Monoglutamate Sodium: Oxidative Stress and Histopathological Study. *The FASEB Journal*. 2017;31(1_supplement):lb31-lb.
75. Ahluwalia P, Tewari K, Choudhary P. Studies on the effects of monosodium glutamate (MSG) on oxidative stress in erythrocytes of adult male mice. *Toxicol Lett*. 1996;84(3):161-5.

76. El-Meghawry El-Kenawy A, Osman HEH, Daghestani MH. The effect of vitamin C administration on monosodium glutamate induced liver injury. An experimental study. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2013;65(5):513-21.
77. Pérez JCR, Esparragón FR, Mogollón JN. PPAR-gamma, hipertensión arterial y riñón. *Nefrología*. 2007;27(1):6-11.
78. Janeczko MJ, Stoll B, Chang X, Guan X, Burrin DG. Extensive gut metabolism limits the intestinal absorption of excessive supplemental dietary glutamate loads in infant pigs. *J Nutr*. 2007;137(11):2384-90.
79. Newsholme P, Procopio J, Lima MM, Pithon-Curi TC, Curi R. Glutamine and glutamate--their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochem Funct*. 2003;21(1):1-9.