



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE BIOMEDICINA

JÚLIA RIBEIRO PIRES

**ESTUDO DO EFEITO DO CONSUMO DE GLUTAMATO MONOSSÓDICO SOBRE
A SENSIBILIDADE NOCICEPTIVA EM RATAS**

UBERLÂNDIA/MG
2019

JÚLIA RIBEIRO PIRES

**ESTUDO DO EFEITO DO CONSUMO DE GLUTAMATO MONOSSÓDICO SOBRE
A SENSIBILIDADE NOCICEPTIVA EM RATAS**

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado como
requisito para obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina na Universidade Federal de Uberlândia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Celina Monteiro da Cruz Lotufo.

UBERLÂNDIA/MG
2019

ESTUDO DO EFEITO DO CONSUMO DE GLUTAMATO MONOSSÓDICO SOBRE A SENSIBILIDADE NOCICEPTIVA EM RATAS

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado como
requisito para obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina na Universidade Federal de Uberlândia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Celina Monteiro da Cruz Lotufo.

Uberlândia, 16 de dezembro de 2019.

Prof^ª. Dr^ª. Celina Monteiro da Cruz Lotufo

Prof. Dr. Daniel Moreira Silva

Prof. Dr. Tarciso Tadeu Miguel

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Hamilton e Andréa**, que desde pequena sempre me apoiaram e me incentivaram a correr atrás dos meus sonhos. Obrigada pela formação humana incrível que me deram, baseada em amor e respeito. Obrigada por tornarem essa graduação possível e por estarem sempre comigo apesar de qualquer distância. Vocês são e sempre serão meu porto seguro.

Aos meus irmãos, **Bruno e Murilo**, por estarem sempre presentes na minha vida e por cada abraço prolongado que recebia quando os visitava em São Paulo.

Ao meu namorado, **André**, não tenho palavras para agradecer todo o apoio e a compreensão que teve durante esses 4 anos de namoro a distância. Obrigada por cada vinda surpresa a Uberlândia e por me ligar todo dia para contarmos sobre nosso dia. Norbus u.

Aos meus **tios, avós, família e amigos** pelo carinho que sempre me deram. Obrigada a todos por cada ligação e mensagens que me faziam me sentir mais pertinho de casa.

Às minhas amigas que a graduação me presenteou, **Isabela, Carol, Bruna e Juliana** que tornaram meus dias de estudos mais leves e engraçados.

À minha orientadora, **Celina**, por todo o conhecimento transmitido e por toda ajuda e paciência durante esse ano.

Aos meus colegas de laboratório, **Júnior, Rafaela e Taís** que me ajudaram nos experimentos e tornaram esse trabalho possível.

RESUMO

O glutamato monossódico é amplamente utilizado como realçador do sabor em alimentos e tem sido considerado seguro para alimentação visto que estudos mostraram que o glutamato não atravessa a barreira hematoneural. No entanto, pesquisas sugerem que o glutamato monossódico pode contribuir para a diminuição do limiar de dor em humanos e animais experimentais. Considerando que trabalhos prévios de nosso grupo de pesquisa mostraram que os receptores glutamatérgicos do tipo NMDA presentes no gânglio da raiz dorsal participam do processamento da dor e que esta estrutura não possui barreira hematoneural, é possível que a ingestão de glutamato monossódico afete o processamento nociceptivo neste nível periférico. O objetivo deste projeto foi verificar se a ingestão de glutamato monossódico, de forma aguda ou crônica, pode influenciar a sensibilidade dolorosa em modelos de dor e hiperalgesia em ratos. Para tanto, foram realizados dois testes nociceptivos, o da carragenina e o da capsaicina. No estudo do efeito agudo, o glutamato monossódico ou o veículo foi administrado via oral por gavagem 1 hora antes dos testes. No estudo do efeito crônico, o glutamato monossódico ou o veículo (água) foi administrado diariamente via oral por gavagem por 21 dias antes dos testes. Foram testadas duas doses de solução de glutamato monossódico, uma de 150mg/kg e outra de 300mg/kg. Como resultado foi observado um aumento do comportamento nociceptivo, induzido pela capsaicina, após o consumo crônico de glutamato monossódico. Desta forma, é possível dizer que o consumo de glutamato monossódico pode resultar em um aumento da sensibilidade dolorosa. Esses dados preliminares indicam que mais pesquisas são necessárias para confirmar a relação entre consumo de glutamato e limiares de dor e também para estudar o envolvimento de receptores NMDA periféricos.

Palavras-chave: Glutamato monossódico. Dor. Nocicepção. Gânglio da raiz dorsal.

ABSTRACT

Monosodium glutamate is widely used as a flavor enhancer in foods and has been considered safe for ingestion as studies have shown that glutamate does not cross the blood-brain barrier. However, data suggest that monosodium glutamate may contribute to lower pain thresholds in humans and experimental animals. Considering that we have previously verified that NMDA-type glutamatergic receptors present in the dorsal root ganglion participate in pain processing and that this structure has no hematoneural barrier, it is possible that ingestion of monosodium glutamate affects nociceptive processing at this peripheral level. The aim of this project was to verify whether acute or chronic monosodium glutamate intake can influence pain sensitivity in pain and hyperalgesia models in rats. For this, two nociceptive tests were performed, carrageenan and capsaicin. In the acute study, monosodium glutamate or vehicle was administered orally by gavage 1 hour before testing. In the chronic study, monosodium glutamate or vehicle (water) was administered orally daily by gavage for 21 days prior to testing. Two doses of monosodium glutamate were tested, 150 mg/kg and 300 mg/kg. Our results revealed that, was observed an increase in nociceptive behavior, induced by capsaicin following chronic monosodium glutamate consumption. Thus, consumption of monosodium glutamate may result in increased pain sensitivity. These preliminary data indicate that further studies are needed in order to confirm the relation of glutamate consumption and pain thresholds and also to study the involvement of peripheral NMDA receptors.

Keywords: Monosodium glutamate. Pain. Nociception. Dorsal root ganglion.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADI	Ingestão diária aceitável
AMPAR	Receptores alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico
AP-5	2-amino-5-fosfopentóico
BHE	Barreira hematoencefálica
Ca ²⁺	Cálcio
EPM	Erro padrão da média
FDA	Food and Drug Administration
IASP	International Association for the Study of Pain
IP3	Inositol trifosfato
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
mGluR	Receptores glutamatérgicos metabotrópicos
GMS	Glutamato monossódico
Na ⁺	Sódio
NMDAR	Receptores N-metil-D-aspartato
OMS	Organização Mundial da Saúde
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
SCF	Scientific Committee for Food of the European Commission
TRPM5	Transient receptor potential cation channel subfamily M member 5
TRPV1	Receptor de potencial transitório vanilóide do tipo 1

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Efeito agudo do consumo de glutamato monossódico sobre a nocicepção induzida por capsaicina na pata de ratas	21
Figura 2 - Efeito agudo do consumo de glutamato monossódico sobre a hiperalgesia inflamatória induzida por carragenina na pata de ratas	21
Figura 3 - Efeito crônico do consumo de glutamato monossódico sobre a nocicepção induzida por capsaicina na pata de ratas	22
Figura 4 - Efeito crônico do consumo de glutamato monossódico sobre a hiperalgesia inflamatória induzida por carragenina na pata de ratas	23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	JUSTIFICATIVA	15
3	OBJETIVOS.....	15
	3.1 Geral.....	15
	3.2 Específicos.....	15
4	MATERIAL E MÉTODOS	17
	4.1 Animais	17
	4.2 Administração de glutamato monossódico	17
	4.3 Delineamento experimental.....	17
	4.4 Teste de nocicepção induzido por capsaicina	18
	4.5 Teste de hiperalgesia inflamatória induzida por carragenina	18
	4.6 Análise estatística	20
5	RESULTADOS	20
	5.1 Efeito agudo do glutamato monossódico no teste da capsaicina.....	20
	5.2 Efeito agudo do glutamato monossódico no teste da carragenina.....	21
	5.3 Efeito crônico do glutamato monossódico no teste da capsaicina	22
	5.4 Efeito crônico do glutamato monossódico no teste da carragenina	23
6	DISCUSSÃO.....	24
7	CONCLUSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

A dor é definida pela *International Association for the Study of Pain* (IASP) como “Experiência sensorial e emocional desagradável associada à lesão tecidual, real ou potencial, ou descrita em termos desta lesão”. Sendo sinônimo de sofrimento para muitas pessoas, a dor influencia significativamente na qualidade de vida, podendo gerar incapacitação para o trabalho e ocasionar graves consequências psicossociais e econômicas (DELLAROZA et al., 2008).

A dor é um importante mecanismo de proteção para o organismo que permite detectar estímulos dolorosos e produzir respostas adequadas contra esses estímulos. A dor aguda pode ser percebida quando estímulos térmicos, mecânicos ou químicos de alta intensidade, que podem ser nocivos, são detectados pelas fibras aferentes primárias, os nociceptores, e são transduzidos em sinais elétricos neurais, liberando neurotransmissores como o glutamato nos terminais centrais ou periféricos. Os neurônios nociceptivos podem ser divididos em dois tipos, de acordo com o tipo de fibra que conduz a informação até o sistema nervoso central. Existem nociceptores que possuem fibras não mielinizadas, fibras C, com baixa velocidade de condução, e nociceptores com fibras A δ , finamente mielinizadas. O aspecto sensorial da dor é denominado de nocicepção, enquanto que no encéfalo este sinal nociceptivo vai ser interpretado como dor, determinando a experiência emocional desagradável associada a esta sensação (BASBAUM, 2009).

Um aspecto importante relacionado aos nociceptores é a capacidade destes neurônios serem sensibilizados, principalmente por mediadores inflamatórios, sendo os mais importantes as prostaglandinas. A sensibilização do nociceptor ocorre por uma diminuição no limiar de ativação destes neurônios, sintomas que na clínica médica são conhecidos como hiperalgesia e alodinia. No caso a alodinia refere-se a situações em que estímulos normalmente inócuos são percebidos como dolorosos, enquanto que a hiperalgesia refere-se a uma dor aumentada em resposta a estímulos que já seriam dolorosos (BASBAUM, 2009). Em pesquisas com animais experimentais, é mais difícil distinguir estas duas situações de forma que os termos mais utilizados são hiperalgesia ou hipernocicepção.

Na dor aguda, como em situações de inflamação, a sensibilização ocorre, de forma mais importante em neurônios aferentes primários, especialmente naqueles nociceptores com fibras do tipo C. No entanto, se o estímulo for prolongado, como em doenças crônicas, os neurônios de segunda ordem, que ficam localizados no corno dorsal da medula espinhal, também podem ser sensibilizados. A sinapse entre os neurônios de primeira e segunda ordem na via da dor ocorre, principalmente, por meio do neurotransmissor glutamato, sendo que

alterações nesta sinapse parecem ser importantes para o processo de sensibilização central no processo de cronificação da dor (BASBAUM, 2009).

O glutamato é um aminoácido conhecido como o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso. Participa de diversas funções neurais como memória, aprendizagem e plasticidade sináptica. Os receptores glutamatérgicos podem ser do tipo metabotrópicos ou ionotrópicos. Os metabotrópicos (mGluR) são subdivididos em 8 receptores acoplados a uma proteína G. Os ionotrópicos, por sua vez, são subdivididos em kainato, alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico (AMPA) e N-metil-D-aspartato (NMDAR). Uma vez ativado, o receptor NMDA permite o influxo de íons Ca^{2+} e Na^{+} através de um canal, favorecendo a geração de potenciais de ação (ROJAS; NERI, 2016).

A hiperexcitabilidade relacionada à dor crônica tem sido associada ao envolvimento do receptor NMDA na medula espinhal, visto que atividade desse receptor pode ser a responsável pela sensibilização do neurônio de segunda ordem (PETRENKO, 2003).

Além disso, o glutamato é conhecido por ser uma excitotoxina e, quando em excesso, pode induzir morte celular neuronal e estar relacionado com doenças neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson e esclerose múltipla (WILLARD; KOOCHKPOUR, 2013). Por esta razão, a concentração extracelular de glutamato no sistema nervoso central é controlada por meio de captação por células da glia, os astrócitos, que convertem o glutamato em glutamina e por meio da barreira hematoencefálica (BHE) (HAWKINS, 2009).

Além de seu papel como neurotransmissor o aminoácido glutamato está presente em diversos alimentos, sendo responsável pela detecção de um sabor específico conhecido por umami (ATASEVEN et al., 2016). Na indústria alimentícia, o glutamato é muito utilizado como realçador de sabor, na forma de glutamato monossódico (GMS), vendido como Ajinomoto®.

O sabor umami foi descoberto em 1907 por Kikunae Ikeda. O cientista japonês considerou a existência de um novo sabor presente em algas e carnes, além dos sabores básicos reconhecidos como doce, salgado, amargo e azedo. Para identificar esse novo sabor, Ikeda desenvolveu uma série de experimentos com algas e concluiu que o novo sabor era proveniente de um sal de ácido orgânico. Mais adiante, descobriu que a fórmula molecular desse ácido era $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$ que correspondia ao ácido glutâmico descrito por Ritthausen em 1866. Desta forma, o sal de sódio do ácido glutâmico, hoje conhecido como glutamato monossódico, se consolidou como o responsável por gerar um sabor específico que foi chamado de umami (KURIHARA, 2009).

O glutamato monossódico está presente naturalmente em diversos alimentos como tomate, carnes, milho, ervilhas e cogumelos. Sendo utilizado como intensificador de sabor, está

presente também em diversos alimentos industrializados como vegetais enlatados, salgadinhos, sopas instantâneas e temperos prontos (MALULY; ARISSETO-BRAGOTTO; REYES, 2017). Para a produção do glutamato monossódico, o ácido glutâmico é obtido através do processo de fermentação de amidos e açúcares pela *Corynebacterium glutamicum*. Após ser filtrado e purificado, é convertido em sal no glutamato monossódico (CHAKRABORTY, 2018). Dois enantiômeros são conhecidos, mas apenas o isômero L é utilizado como intensificador de sabor (ZANFIRESCU et al., 2017).

Ao ser ingerido, o glutamato monossódico entra em contato com receptores metabotrópicos de glutamato localizados nas papilas gustativas da língua, mais especificamente o mGluR4. A subunidade $\beta\gamma$ da proteína G ativa a fosfolipase C e gera inositol trifosfato (IP3). Este libera o Ca^{2+} contido no retículo endoplasmático para o citosol. O aumento de Ca^{2+} estimula o receptor TRPM5 (transient receptor potential cation channel subfamily M member 5) a promover o influxo de Na^{+} , gerando a despolarização da membrana celular. Essa despolarização e o aumento de Ca^{2+} provocam a abertura de junções comunicantes (GAP), e liberam ATP para o meio extracelular. O ATP estimula as fibras nervosas aferentes e as células pré-sinápticas adjacentes, proporcionando a percepção gustativa umami no cérebro (MALULY; ARISSETO-BRAGOTTO; REYES, 2017).

O cloreto de sódio (NaCl) vem sendo substituído pelo glutamato monossódico no preparo de diversos alimentos. O cloreto de sódio é o ingrediente mais utilizado na cozinha, porém seu consumo em excesso tem sido associado a diversas doenças crônicas como hipertensão, osteoporose, câncer de estômago e problemas renais. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda um consumo máximo de 2 gramas de sódio por dia. Todavia, segundo a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), no Brasil o consumo diário de sódio é em média de 4,7 gramas. Esse alto índice deve-se principalmente a grande procura de alimentos industrializados. A fim de diminuir a alta ingestão de sódio, estratégias como a substituição do NaCl em alimentos por intensificadores de sabor, como o glutamato monossódico, vem sendo utilizadas para melhorar a saúde das pessoas já que o glutamato monossódico possui 1/3 menos sódio (MALULY; ARISSETO-BRAGOTTO; REYES, 2017).

Em relação à segurança da ingestão do glutamato monossódico, em 1988, a *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) atribuiu uma ADI (ingestão diária aceitável) não especificada para o glutamato monossódico e considerou que a ingestão de glutamato monossódico não representa um risco para a saúde humana. Em 1991, o *Scientific Committee for Food of the European Commission* (SCF) concordou com a JECFA. O Parlamento Europeu e o Conselho da União Europeia, entretanto, estabeleceu em 1995 e

revalidou em 2008, um limite de 10 g/kg (1,0%) para o uso do glutamato monossódico como intensificador de sabor nos alimentos. Já a *Food and Drug Administration* (FDA) nos EUA classifica o glutamato monossódico como “geralmente reconhecido como seguro” (MALULY; ARISSETO-BRAGOTTO; REYES, 2017).

Apesar de ser considerado “seguro”, o glutamato monossódico tem sido associado a vários distúrbios de saúde incluindo obesidade, asma, efeitos neurotóxicos, disfunções reprodutivas e “síndrome do restaurante chinês”, que gera sintomas como fadiga, fraqueza e palpitações 20 minutos após um consumo elevado de glutamato monossódico (NIAZ; ZAPLATIC; SPOOR, 2018).

Dois estudos realizados em humanos (HOLTON et al., 2012; HOLTON; NDEGE; CLAUW, 2018) e um em ratos (ZANFIRESCU et al., 2017) possuem resultados que sugerem que o glutamato monossódico possa diminuir o limiar de dor. O primeiro estudo (HOLTON et al., 2012) examinou os efeitos do consumo de glutamato monossódico comparado ao placebo em pacientes com fibromialgia. Este estudo mostrou que a restrição ao glutamato monossódico resultou em aproximadamente 30% de remissão dos sintomas, sendo que retorno do consumo de glutamato induziu um agravamento dos sintomas de fibromialgia. O segundo estudo realizado em humanos (HOLTON; NDEGE; CLAUW, 2018) relacionou o consumo de um tempero contendo glutamato monossódico com escores de dor crônica em uma população. Uma intervenção que modificou o tempero utilizado, excluindo o glutamato monossódico, resultou em diminuição significativa nos escores de dor. Já o estudo com animais experimentais (ZANFIRESCU et al., 2017) avaliou o efeito de 21 dias de administração diária de duas dosagens diferentes de glutamato monossódico, 150mg/kg e 300mg/kg. Neste estudo foi verificado aumento na sensibilidade nociceptiva no teste da placa quente e no teste da formalina em ratos tratados com 300 mg/kg de glutamato monossódico.

O glutamato monossódico tem sido considerado seguro devido à eficácia da barreira hematoencefálica que impede sua passagem para o sistema nervoso central. A barreira hematoencefálica consiste em uma barreira de difusão seletiva entre a circulação periférica e o sistema nervoso central. Esta barreira é composta pelo endotélio microvascular cerebral, astrócitos, pericitos, neurônios e matriz extracelular. Duas grandes características desta barreira é a falta de fenestrações e a presença de junções de oclusão (“tight junctions”) entre as células endoteliais (HAWKINS; DAVIS, 2005).

Pesquisas anteriores (CACCIA et al., 1982; SMITH, 2000) indicam que doses de até 1g/kg de glutamato monossódico não atravessam a barreira hematoencefálica de forma significativa. Por esta razão, não é possível dizer que o consumo de glutamato monossódico

cause aumento na neurotransmissão glutamatérgica no sistema nervoso central. Estes estudos são referenciados quando se discute sobre a segurança para o consumo de glutamato. No entanto, dados de nosso grupo sugerem um papel para o glutamato no processamento da dor em nível periférico, no gânglio da raiz dorsal (FERRARI et al., 2014).

O gânglio da raiz dorsal é uma estrutura localizada periféricamente, ao lado da medula espinhal, e que possui em seu interior os corpos celulares de neurônios sensoriais aferentes primários somestésicos assim como células da glia. Os potenciais de ação gerados pelo estímulo do terminal periférico dos neurônios sensitivos primários podem passar diretamente para o terminal central, de forma que os gânglios da raiz dorsal normalmente não são incluídos no circuito de transmissão do sinal nociceptivo. Entretanto, essa estrutura tem chamado atenção visto que possui diversas características peculiares que levam a crer que ocorre sim um processamento do sinal nos gânglios sensitivos. Dentre essas características, destaca-se o fato de o gânglio da raiz dorsal não possuir uma barreira biológica que o separa da corrente sanguínea, como é o caso da barreira hematoencefálica. Sendo assim, após o consumo de glutamato monossódico é possível que se tenha um aumento dos níveis de glutamato periféricamente nos gânglios. Além disso, o gânglio da raiz dorsal possui neurônios com morfologia pseudounipolar e sem dentritos, característica praticamente única em todo o sistema nervoso humano. Outro ponto a ser considerado é que estes neurônios possuem corpos celulares que, apesar de estarem localizados fora da haste axonal, apresentam receptores para muitos neurotransmissores e são excitados eletricamente durante a passagem de um sinal. Uma última característica relevante é o fato de os neurônios do gânglio da raiz dorsal serem envoltos por uma camada de células gliais satélites (DEVOR, 1999). Estudo anterior de nosso grupo (FERRARI et al., 2014) verificou que essas células gliais possuem receptores NMDA glutamatérgicos com papel na dor de origem inflamatória. Neste estudo mostrou-se que o bloqueio da ativação ou da expressão de receptores NMDA no gânglio da raiz dorsal de ratos reduz a hiperalgesia inflamatória. Desta forma, evidencia-se que existe uma comunicação entre neurônios nociceptivos e células gliais no processamento da hiperalgesia inflamatória. Outros dois estudos anteriores de nosso grupo (ARAÚJO, 2019; MENDES, 2017) demonstraram que outros modelos de dor como nocicepção induzida por capsaicina, hiperalgesia induzida por carragenina e dor neuropática induzida por constrição do nervo ciático também envolvem a participação do receptor NMDA periférico.

Considerando, portanto, a presença de receptores NMDA periféricos, presentes em uma estrutura que não apresenta barreira hematoneural, é possível que a ingestão de glutamato

monossódico e o consequente aumento nos níveis plasmáticos de glutamato possam afetar o processamento nociceptivo em nível periférico.

Considerando os dados apresentados acima, o presente estudo pretende avaliar o efeito da administração aguda e crônica de glutamato monossódico por via oral em modelos de dor e hiperalgesia em ratas.

2 JUSTIFICATIVA

Se houver relação entre o efeito do consumo de glutamato monossódico e a sensibilidade dolorosa, a diminuição deste aditivo alimentar na dieta poderia ajudar milhares de pessoas que sofrem de dor todos os dias e consequentemente, melhorar a qualidade de vida destas e a saúde pública atual.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Verificar se a ingestão de glutamato monossódico pode influenciar a sensibilidade dolorosa em modelos de dor e hiperalgesia em ratas.

3.2 Específicos

- Avaliar o efeito agudo da ingestão de glutamato monossódico em modelo de nocicepção induzida por injeção de capsaicina na pata de ratas.
- Avaliar o efeito crônico da ingestão de glutamato monossódico em modelo de nocicepção induzida por injeção de capsaicina na pata de ratas.
- Avaliar o efeito agudo da ingestão de glutamato monossódico em modelos de hiperalgesia inflamatória induzida por carragenina na pata de ratas.
- Avaliar o efeito crônico da ingestão de glutamato monossódico em modelos de hiperalgesia inflamatória induzida por carragenina na pata de ratas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Para o presente estudo foram utilizadas 72 ratas Wistar com idade de 8 semanas e peso aproximado de 200 g, provenientes da Rede de Biotérios de Roedores da UFU (REBIR/UFU). Foram mantidas em condições controladas com temperatura de 25 ± 1 °C e ciclo claro-escuro de 12 horas. O acesso a comida e água foi *ad libitum*. Os estudos só foram realizados após aprovação pela Comissão de Ética na Utilização de Animais da Universidade Federal de Uberlândia (CEUA/UFU) segundo o protocolo 034/19, em anexo.

4.2 Administração de glutamato monossódico

O glutamato monossódico utilizado para os experimentos foram comprados da marca Ajinomoto®.

Para estudo do efeito agudo, foi administrada uma única dose de glutamato monossódico via oral por gavagem para os animais em experimentação, sendo que um grupo recebeu 150 mg/kg (solução de 1,5% em água), e outro grupo recebeu 300 mg/kg (solução de 3,0% em água). Os animais do grupo controle receberam 1 ml de água para cada 100 g do peso do animal. Esta quantidade corresponde à quantidade de água que foi administrada como veículo nos grupos tratados com glutamato monossódico. Estas concentrações e o tempo de administração do glutamato monossódico foram selecionados de acordo com estudo de ZANFIRESCU et al. (2017). Para estudo do efeito crônico, foi administrada na parte da manhã uma dose de glutamato monossódico (150 ou 300 mg/kg) ou veículo por 21 dias consecutivos via oral por gavagem, da mesma forma como descrito para administração aguda.

4.3 Delineamento experimental

Metade dos animais foi utilizada para avaliar o efeito agudo do glutamato monossódico sobre a dor e para isso o glutamato monossódico ou o veículo (água), foi administrado via oral por gavagem 1 hora antes dos testes nociceptivos de capsaicina e carragenina. A outra metade

dos animais foi utilizada para testar o efeito crônico do glutamato monossódico sobre a dor, e para isso o glutamato monossódico ou o veículo (água), foi administrado diariamente via oral por gavagem por 21 dias antes dos testes nociceptivos de capsaicina e carragenina.

Os animais foram separados em 12 grupos, sendo 6 grupos para estudo do efeito agudo e 6 grupos para estudo do efeito crônico. Tanto no estudo do efeito agudo como no crônico, foram 3 grupos para o teste da capsaicina e 3 grupos para o teste da carragenina. Desta forma, em cada teste havia o **GRUPO I**: controle que recebeu água (1ml/100g), **GRUPO II**: animais que receberam 150mg/kg de solução de glutamato monossódico (solução de 1,5% em água), e **GRUPO III**: animais que receberam 300mg/kg de solução de glutamato monossódico (solução de 3,0% em água).

4.4 Teste de nociceção induzido por capsaicina

Este teste foi selecionado visto que estudo anterior (MENDES, 2017) mostrou que a administração de antagonista de receptor NMDA no gânglio da raiz dorsal é capaz de inibir a nociceção induzida pela capsaicina. A capsaicina é o componente ativo da pimenta que ativa as fibras do tipo C, mais especificamente por meio de receptores TRPV1 (CATERINA et al., 2000). No teste, foi realizada uma injeção intraplantar subcutânea de 50 µl contendo 10 µg de capsaicina (Sigma em NaCl 0,9% contendo 1% de DMSO), utilizando uma seringa BD Ultra-fine II, 1 hora após a administração do glutamato monossódico ou do veículo (pico de ação do glutamato). Após a injeção intraplantar da capsaicina, o animal foi observado durante 5 minutos e foi registrado o número de sacudidas ou lambidas da pata (reações nociceptivas).

4.5 Teste de hiperalgesia inflamatória induzida por carragenina

Este teste foi selecionado para avaliação do efeito do consumo do glutamato monossódico visto que resultados anteriores (ARAÚJO, 2019) mostram que os receptores NMDA periféricos participam do processamento da hiperalgesia inflamatória induzida por carragenina. A carragenina é um polissacarídeo proveniente de algas que produz uma resposta inflamatória não específica. No teste, foi avaliada a sensibilidade mecânica por meio de um anesthesiômetro eletrônico (von Frey eletrônico Insight), que consiste em um transdutor de

pressão conectado a um contador digital de força expressa em gramas (g) (VIVANCOS, 2004). O contato do transdutor de pressão à pata dos animais é realizado por meio de uma ponteira Universal Tips10mL (T-300, Axygen) adaptada ao aparelho. Os animais foram colocados em caixas de acrílico, cujo assoalho é uma rede de malha igual a 5 mm² constituída de arame não maleável de 1mm de espessura. Um espelho foi posicionado 25 cm abaixo das caixas de experimentação para facilitar a visualização das plantas das patas dos animais. Foi aplicada, por entre as malhas da rede, uma pressão linearmente crescente no centro da planta da pata da rata até que o animal produziu uma resposta caracterizada como sacudida (“flinch”) da pata estimulada. O reflexo de retirada da pata é considerado representativo do limiar hipernociceptivo, ou seja, a força necessária aplicada à pata para que induza uma resposta aversiva a um estímulo nocivo (limiar nociceptivo de retirada da pata - LNRP). A intensidade de hipernocicepção é quantificada como a variação na pressão obtida antes e após o experimento, em gramas. Desta forma, o teste foi realizado na medida basal, e depois foi feita uma aplicação intraplantar de carragenina (Sigma, na pata direita traseira utilizando uma seringa BD Ultra-fine II; 100 µg/50 µL). Após 2 horas, foi administrado o glutamato monossódico ou o veículo (água). Após 1 hora da administração de glutamato, no pico de ação (3 horas após a injeção de carragenina), foi realizada nova avaliação do limiar nociceptivo. Este tempo de avaliação foi escolhido por ser o momento de maior sensibilização induzida por carragenina em ratos (VIVANCOS, 2004). Para reduzir o stress, as ratas foram habituadas ao equipamento 15 minutos antes da execução dos experimentos.



4.6 Análise estatística

As médias foram comparadas através de ANOVA de uma via seguida do teste de comparações múltiplas de Dunnett ou teste t para comparação de duas médias, realizada no software GraphPad Prism. O nível de significância foi estabelecido em 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Efeito agudo do glutamato monossódico no teste da capsaicina

Foi feito inicialmente um teste agudo com 18 ratas, separadas igualmente em três grupos, receberam, respectivamente, água, 150 mg/kg e 300 mg/kg de glutamato monossódico. Após 1 hora da administração, foi feita a injeção intraplantar de capsaicina na pata traseira direita. Imediatamente após a injeção foi contada, por 5 minutos, a quantidade de sacudidas ou lambidas da pata (comportamento nociceptivo).

Um valor obtido do grupo controle foi descartado devido um erro na injeção de capsaicina na pata do animal.

Como resultado, houve uma tendência de aumento do comportamento nociceptivo do grupo que recebeu 300 mg/kg de glutamato monossódico em relação ao grupo controle, uma vez que o teste ANOVA de uma via revelou o valor de $p = 0,07$.

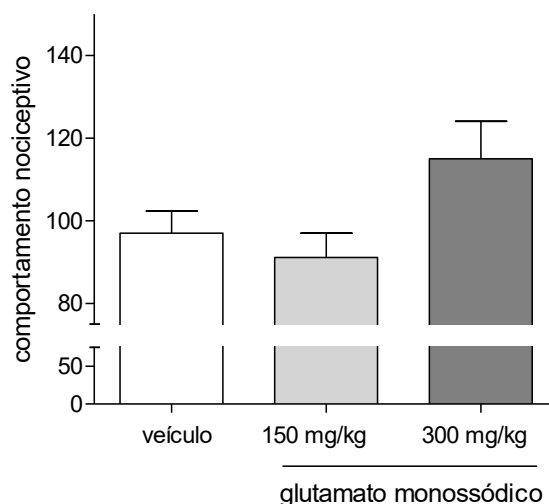


Figura 1 - Efeito agudo do consumo de glutamato monossódico sobre a nocicepção induzida por capsaicina na pata de ratas. Glutamato monossódico (150 ou 300 mg/kg) ou o veículo (água) foram administrados por via oral (gavagem) 1 hora antes da injeção intraplantar de capsaicina (10 µg em 50 µl). Está sendo mostrada a média ± EPM de 4 a 6 animais por grupo.

5.2 Efeito agudo do glutamato monossódico no teste da carragenina

Foi medido inicialmente o limiar mecânico nociceptivo de retirada da pata de 18 ratas utilizando-se o teste de von Frey eletrônico. Em seguida, uma injeção de carragenina foi aplicada na pata traseira direita das ratas. Após duas horas, foram distribuídas em 3 grupos com 6 ratas. Cada grupo recebeu, respectivamente, água, 150 mg/kg e 300 mg/kg de glutamato monossódico. Três horas após a injeção intraplantar de carragenina, foi feita uma nova medida do limiar nociceptivo de cada rata utilizando-se o von Frey.

As medidas do limiar nociceptivo foram tomadas duas vezes por dois experimentadores diferentes. Um dos experimentadores não tinha conhecimento do que havia sido administrado para cada rata, a fim de diminuir o risco de interferência nos resultados. Os resultados obtidos entre os dois experimentadores foram similares.

Não foi observada uma diferença significativa no aumento da intensidade de hiperalgesia dos grupos tratados com glutamato monossódico em relação ao grupo controle.

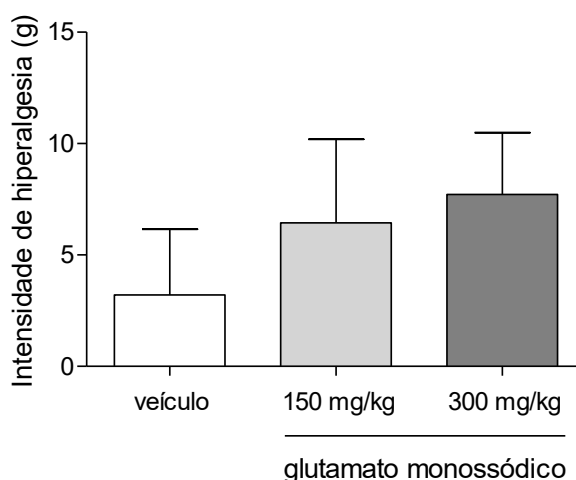


Figura 2 - Efeito agudo do consumo de glutamato monossódico sobre a hiperalgesia inflamatória induzida por carragenina na pata de ratas. Foi feita a medida basal do limiar nociceptivo mecânico e em seguida, a injeção intraplantar de carragenina (100 µg em 50 µl). Após 2 horas, glutamato monossódico (150 ou 300 mg/kg) ou o veículo (água) foram administrados por via oral (gavagem). Depois de 1 hora da administração, foi feita uma nova

medida do limiar nociceptivo no von Frey e foi considerada a diferença entre o valor basal e o valor após administração de carragenina para cada animal testado (intensidade de hiperalgesia). Está sendo mostrada a média $\pm$ EPM de 4 a 6 animais por grupo.

5.3 Efeito crônico do glutamato monossódico no teste da capsaicina

Durante 21 dias consecutivos, 3 grupos de 6 ratas receberam, respectivamente, água, 150 mg/kg e 300 mg/kg de glutamato monossódico. No último dia, após 1 hora da administração de cada rata, foi feita a injeção intraplantar de capsaicina na pata traseira direita. Imediatamente após a injeção foi contada, por 5 minutos, a quantidade de sacudidas ou lambidas da pata.

Dois valores obtidos do grupo que recebeu 150 mg/kg de glutamato monossódico foram desconsiderados. O primeiro foi descartado devido a um comportamento anormal da rata que não apresentou resposta nociceptiva, e permaneceu imóvel. E o segundo valor foi desconsiderado pois no momento da injeção de capsaicina na pata, provavelmente algum vaso sanguíneo foi atingido ocasionando um grande sangramento.

Ao comparar os resultados, observamos que houve um aumento significativo do comportamento nociceptivo do grupo que recebeu 150 mg/kg de glutamato monossódico em relação ao grupo controle.

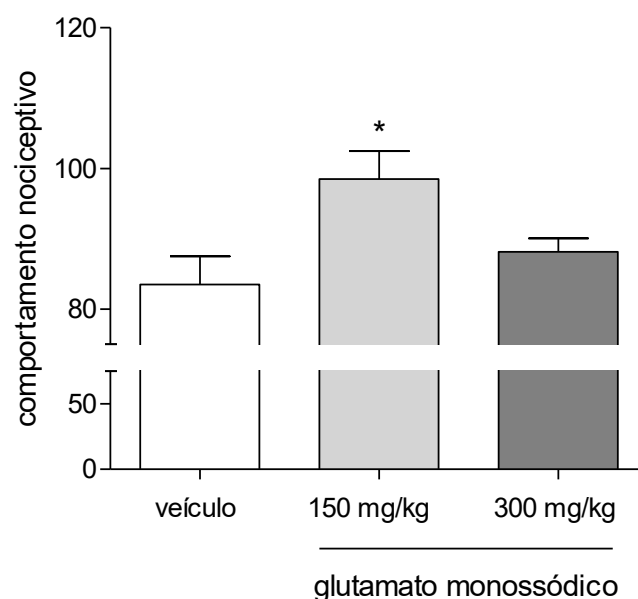


Figura 3 - Efeito crônico do consumo de glutamato monossódico sobre a nocicepção induzida por capsaicina na pata de ratas. Glutamato monossódico (150 ou 300 mg/kg) ou o veículo (água) foram administrados por via oral (gavagem) por 21 dias consecutivos. No último dia, 1 hora após a administração do glutamato foi feita a injeção

intraplantar de capsaicina (10 µg em 50 µl). Está sendo mostrada a média $\pm$ EPM de 4 a 6 animais por grupo. * significativamente diferente do grupo veículo ($p < 0,05$, ANOVA seguida de Dunnet).

5.4 Efeito crônico do glutamato monossódico no teste da carragenina

Por 21 dias consecutivos, 18 ratas separadas igualmente em três grupos receberam, respectivamente, água, 150 mg/kg e 300 mg/kg de glutamato monossódico. No último dia, 2 horas antes da administração do glutamato ou veículo, as ratas foram submetidas ao von Frey e suas medidas de limiar nociceptivo de retirada da pata foram anotadas. Em seguida, receberam uma injeção de carragenina na pata traseira direita. Uma hora após a administração, foi feita uma nova medida do limiar nociceptivo.

As medidas do limiar nociceptivo foram tomadas duas vezes por dois experimentadores diferentes. Um dos experimentadores não tinha conhecimento do que havia sido administrado para cada rata, a fim de confirmar o resultado de forma cega. Os resultados obtidos entre os dois experimentadores foram similares.

Não foi observada uma diferença significativa no aumento da intensidade de hiperalgesia dos grupos tratados com glutamato monossódico em relação ao grupo controle.

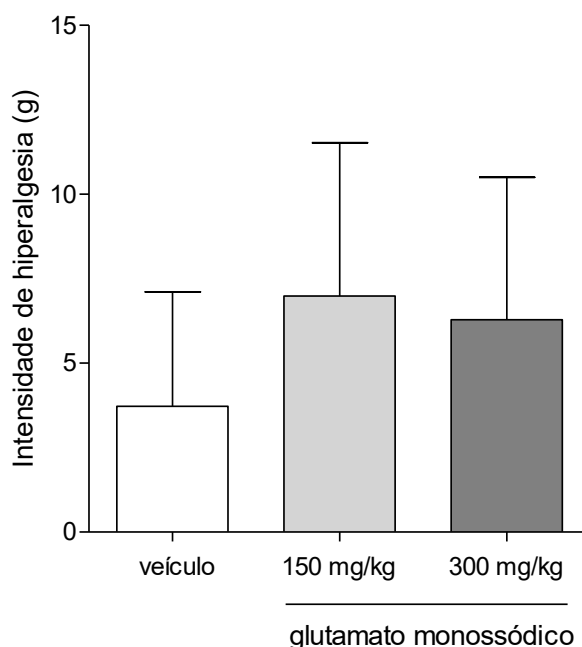


Figura 4 - Efeito crônico do consumo de glutamato monossódico sobre a hiperalgesia inflamatória induzida por carragenina na pata de ratas. Glutamato monossódico (150 ou 300 mg/kg) ou o veículo (água) foram administrados por via oral (gavagem) por 21 dias consecutivos. No último dia, foi feita a medida basal do limiar nociceptivo mecânico no von Frey e, em seguida, a injeção intraplantar de carragenina (100 µg em 50 µl). Após 2 horas, o glutamato monossódico ou o veículo foram administrados. Depois de 1 hora da administração, foi feita uma nova

medida do limiar nociceptivo no von Frey e foi considerada a diferença entre o valor basal e o valor após administração de carragenina para cada animal testado (intensidade de hiperalgesia). Está sendo mostrada a média $\pm$ EPM de 4 a 6 animais por grupo.

6 DISCUSSÃO

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso e está relacionado com a sensibilidade dolorosa central e periférica. O glutamato monossódico, presente naturalmente em muito alimentos e utilizado como intensificador de sabor, tem sido questionado quanto a sua segurança, visto que alguns estudos (HOLTON et al., 2012; HOLTON; NDEGE; CLAUW, 2018; ZANFIRESCU et al., 2017) sugerem que o glutamato monossódico possa diminuir o limiar de dor.

Estudo publicado por Holton et al. (2012) modificou durante quatro semanas a dieta de 37 pessoas diagnosticadas com fibromialgia. Nessa nova dieta foram excluídas excitotoxinas aditivas, como o glutamato monossódico. Antes de iniciarem a dieta, os participantes responderam a questionários e tiveram suas medidas antropométricas tomadas. Como resultado da nova dieta, 84% dos participantes relataram melhora de mais de 30% dos sintomas. Estes foram então submetidos a mais duas semanas de experimento, em que foram randomizados para receberem um suco sem aditivos (placebo) ou com 5 g de glutamato monossódico após 8 h de jejum. Essa dosagem foi escolhida para simular a “síndrome do restaurante chinês”. Os participantes que receberam o suco com glutamato monossódico apresentaram um retorno significativo dos sintomas em relação ao grupo controle, de acordo com os questionários respondidos.

Holton, Ndege e Clauw (2018) realizaram um estudo com 30 participantes com dor crônica no Meru, Quênia. Os participantes anotaram por 1 semana um diário de alimentação e de sintomas, além de responderem questionários sobre a dor. Com base no relato de baixo consumo de água e de consumo de especiarias com glutamato monossódico, os participantes foram distribuídos em quatro grupos por duas semanas. O primeiro grupo foi designado a aumentar o consumo de água por dia, o segundo grupo foi instruído a consumir especiarias sem o glutamato monossódico, o terceiro grupo foi designado a consumir mais água e as especiarias sem o glutamato monossódico e o quarto e último grupo recebeu 1000 mg de paracetamol duas vezes por dia. Como resultado houve redução significativa de mais de 30% no escore de

impacto da dor, com a maior melhora percentual sendo identificada no terceiro grupo, aquele que teve o glutamato monossódico retirado da dieta e aumento do consumo de água.

Zanfirescu et al. (2017) avaliou o efeito do consumo crônico de glutamato monossódico em 60 ratos e a indução de hiperalgesia. Os animais foram separados em três grupos e foram administrados por 21 dias água destilada 1 mL/100 g para o grupo controle e 150 mg/kg de glutamato monossódico (solução 1,5%) e 300 mg/kg de glutamato monossódico (solução a 3,0%) para os grupos experimentais. Foram realizados os testes da formalina e o teste da placa quente. No teste da formalina o grupo que recebeu 300 mg/kg de glutamato monossódico apresentou um aumento pequeno, mas significativo, no tempo de reação em relação ao grupo controle na segunda fase do teste, a fase inflamatória. Uma diferença mais expressiva na sensibilidade nociceptiva foi verificada nos animais que ingeriram 300 mg/kg de glutamato monossódico durante o teste da placa quente. Considerando este estudo de Zanfirescu et al. (2017), escolhemos utilizar as concentrações de 150 e 300 mg/kg de glutamato monossódico para o tratamento dos animais experimentais em nosso estudo.

Araújo (2019) e Mendes (2017) avaliaram o efeito da administração intraganglionar do antagonista de receptores NMDA (AP-5) na nocicepção, induzida por capsaicina, e na hiperalgesia inflamatória, induzida por carragenina. A injeção diretamente no gânglio da raiz dorsal permite verificar o efeito das drogas apenas sobre neurônios nociceptivos primários e células satélites sem a possibilidade de ação das mesmas em neurônios secundários ou em outras células do tecido periférico (MENDES, 2017). Como resultado, foi demonstrado que o bloqueio do receptor NMDA periférico gera uma diminuição significativa do comportamento nociceptivo e da intensidade de hiperalgesia nos testes da capsaicina e da carragenina. Visto que o teste da placa quente, conforme utilizado por Zanfirescu et al. (2017) em uma temperatura de 55°C, depende de uma sensibilidade térmica que envolve principalmente o receptores do tipo TRPV1, o mesmo receptor ativado pela capsaicina, podemos considerar que o teste da capsaicina e o teste da placa quente tem mecanismos de nocicepção semelhantes (CATERINA et al., 2000). Em nosso laboratório, não tivemos resultados confiáveis usando o teste da placa quente pois a variabilidade individual é muito alta (dados não publicados). Araújo (2019) avaliou também o efeito da injeção intraganglionar do antagonista de receptores NMDA (AP-5) na nocicepção induzida por formalina. Nos chama a atenção o fato de que o efeito do bloqueio do receptor NMDA periférico causou apenas uma pequena alteração na segunda fase do teste da formalina, de forma semelhante ao ocorrido no estudo de Zanfirescu et al. (2017), sugerindo que ambos os efeitos podem estar relacionados. Ainda assim, por conta da pequena diferença encontrada, o teste da formalina não foi utilizado no presente trabalho, tendo sido

selecionados os testes da capsaicina e carragenina, em que verificamos uma participação maior dos receptores NMDA periféricos (ARAÚJO, 2019; MENDES, 2017).

Ainda existem poucos estudos relatando a quantidade de glutamato monossódico ingerida diariamente por humanos. Entretanto, segundo a FDA, a média ingerida por dia por um adulto médio é aproximadamente 13 g a partir da proteína de alimentos, e 0,55 g como intensificador de sabor. Desta forma, assumindo uma pessoa de 60 kg, a ingestão média diária de glutamato presente naturalmente nos alimentos é estimada em 210 mg/kg de peso corporal. Já a ingestão diária de glutamato monossódico utilizado como aditivo alimentar é estimada em 9 mg/kg de peso corporal. Diante dessas informações, as concentrações de glutamato monossódico utilizadas nos experimentos está próxima da quantidade estimada ingerida por dia por humanos, embora não tenhamos os dados referentes à quantidade de glutamato nas proteínas presentes na ração dos animais experimentais.

Quanto ao metabolismo e farmacocinética, a maior parte do glutamato (até 95%) é metabolizada pelo efeito de primeira passagem. Desta forma, o glutamato é utilizado primeiramente como fonte de energia para os enterócitos e, em seguida, segue para a circulação portal e é metabolizado no fígado (MALULY; ARISSETO-BRAGOTTO; REYES, 2017). Devido ao rápido metabolismo do glutamato monossódico, há divergências entre alguns estudos em relação ao aumento dos níveis plasmáticos de glutamato após o consumo de glutamato monossódico.

Em estudo de Fernstrom (2018) foram feitos dois experimentos com humanos que verificaram a relação dos níveis plasmáticos de glutamato e a ingestão de glutamato monossódico. No primeiro experimento, foram colhidas amostras de sangue antes e após o consumo de veículo ou uma refeição com 90 g de proteína (que contém cerca de 9 g de glutamato, o equivalente a 130 mg de glutamato por kg para um indivíduo de 70 kg) ou o consumo de uma bebida com 12.7 g de glutamato monossódico (equivalente a 180 mg de glutamato por kg para um indivíduo de 70 kg). Como resultado, houve diferença significativa nos níveis plasmáticos de glutamato apenas no grupo que recebeu glutamato monossódico na bebida. No outro experimento 100 mg/kg de glutamato monossódico foram divididos ao longo de um dia, no café da manhã, almoço e janta. Amostras de sangue foram coletadas ao longo das 24 horas e não houve uma diferença significativa nos níveis de glutamato em relação ao grupo que recebeu as refeições sem glutamato monossódico. Desta forma, Fernstrom (2018) concluiu que a ingestão de glutamato monossódico em alimentos não produz aumentos apreciáveis nas concentrações plasmáticas de glutamato, enquanto que a adição deste aditivo na bebida pode causar um aumento significativo.

Confirmando que a ingestão de glutamato monossódico na bebida pode levar a um aumento nos níveis séricos de glutamato, Shimada et al. (2015) realizou um estudo randomizado com 32 participantes por cinco dias. Durante esses dias, os participantes beberam um refrigerante de 400 ml com 150 mg/kg de glutamato monossódico ou 24 mg/kg de NaCl (placebo) diluídos, e nos dias 1 e 5 foi coletado uma amostra de sangue 30 minutos depois. Como resultado, os níveis plasmáticos de glutamato eram significativamente maiores tanto no dia 1 como no dia 5 no grupo que recebeu glutamato monossódico em comparação ao grupo controle.

Stegink, Filer e Baker (1985) também sugerem que o glutamato monossódico, quando colocado junto a um alimento, promove um menor aumento no nível plasmático de glutamato em comparação quando colocado na água. O trabalho discute que a presença de carboidratos pode fazer com que os enterócitos metabolizem ainda mais o glutamato e assim, menor quantidade segue para a circulação portal. Desta forma, a presença o modo como o glutamato monossódico é ingerido, pode também alterar os níveis plasmáticos do glutamato.

Estudo de Nishigaki et al. (2018) demonstrou que ratos que receberam veículo ou soluções de 60 ou 180 mM de glutamato monossódico em água, por 5 semanas, não tiveram diferenças significativas em relação ao nível plasmático de glutamato. Entretanto, ao submeterem os animais a um jejum de 16 horas, seguidos de 30 minutos de auto-ingestão de solução de 180 mM de glutamato monossódico, houve um aumento significativo nos níveis plasmáticos de glutamato em relação à medida basal. Desta forma, pode ser que o jejum também tenha influência sobre o aumento dos níveis plasmáticos de glutamato, após o consumo de glutamato monossódico. Quando em jejum, após 30 minutos de auto-ingestão da solução de 180 mM de glutamato monossódico os níveis plasmáticos de glutamato aumentaram em sete vezes, chegando a 700 μ M. De forma interessante, neste estudo foi testada esta concentração de glutamato monossódico em culturas de neurônios e foi verificada a toxicidade apenas em culturas que não apresentavam barreira hematoencefálica.

Onaolapo et al. (2016) realizou um experimento com 60 camundongos por 28 dias. Distribuídos em seis grupos, receberam água destilada (veículo), 10 mg/kg de L-glutamato e 10, 20, 40 e 80 mg/kg de glutamato monossódico. Como resultado, os níveis plasmáticos de glutamina e glutamato aumentaram significativamente em relação ao grupo controle nas dosagens de 40 e 80 mg/kg de glutamato monossódico. Curiosamente, apesar dessas dosagens de glutamato monossódico não terem aumentado os níveis totais de glutamato e glutamina no cérebro em relação ao grupo controle, foi observado alterações morfológicas compatíveis com

lesão neuronal. Portanto, podem haver mecanismos envolvidos no efeito da ingestão do glutamato monossódico que não são dependentes do aumento no sistema nervoso central.

Desta forma, não há um consenso sobre o aumento dos níveis plasmáticos de glutamato após o consumo de glutamato monossódico. Variáveis como a quantidade consumida, jejum e o modo como é consumida, se com água ou com alimentos, podem afetar o nível plasmático de glutamato. Além disso, estudos como o de Battezzati, Brillon e Matthews (1995) especulam que o aumento plasmático de glutamato pode ser originado do catabolismo da glutamina por meio da atividade intestinal de glutaminases e não diretamente por meio da absorção de glutamato proveniente da dieta. Assim, o aumento dos níveis plasmáticos de glutamato precisa ser melhor elucidado.

Em nossos experimentos, decidimos também avaliar um possível efeito agudo do consumo de glutamato, considerando que alguns estudos referem um aumento na concentração plasmática deste aminoácido após o consumo e também considerando os relatos envolvendo a chamada “síndrome do restaurante chinês”. Este é um estudo piloto, realizado com um número reduzido de animais, e que deverá ser continuado. Os dados preliminares, no entanto, já mostram que o consumo crônico de 150 mg/kg de glutamato monossódico levou a um aumento no comportamento nociceptivo induzido por capsaicina. Podemos perceber também uma tendência a aumento da sensibilidade nociceptiva no teste em que foi realizada a ingestão aguda de glutamato monossódico na dose de 300 mg/kg. Os resultados obtidos no teste de hiperalgesia inflamatória induzida por carragenina não mostraram uma diferença significativa, apesar de o valor das médias das medidas dos animais tratados com glutamato monossódico estar maior do que aqueles dos controles. A maior variabilidade dos resultados obtidos com este teste faz com que um número maior de animais experimentais seja necessário. Por outro lado, podemos perceber uma consistência nos resultados dos testes realizados, de forma que todos sugerem um possível efeito do glutamato monossódico.

Considerando a ampla utilização deste aditivo alimentar, estes resultados nos motivam a dar continuidade aos experimentos avaliando os efeitos do consumo de glutamato monossódico sobre a dor e hiperalgesia. Nos próximos experimentos pretendemos considerar alguns fatores que não foram avaliados no experimento realizado, como jejum e administração de glutamato monossódico na água ou nos alimentos, visto que estudos reportam que existe diferença na metabolização do glutamato e nas variações plasmáticas deste aminoácido. Além disso, a administração de NaCl diluído em água como controle pode vir a ser utilizado no lugar da água para garantir que o sódio ingerido não interfira nos resultados obtidos.

Em resumo, a literatura referente aos efeitos da ingestão de glutamato monossódico ainda é controversa. Embora possamos concluir que o glutamato monossódico não seja tóxico em níveis controlados, um possível efeito sobre o limiar nociceptivo, conforme indicado pelos atuais resultados, pode ser importante para a saúde de muitos indivíduos. Especialmente considerando aqueles que sofrem diariamente com dores crônicas, a identificação de fatores dietéticos que interferem na dor pode ser de grande valia.

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo piloto são sugestivos de que a ingestão de glutamato monossódico pode estar relacionado com um aumento da sensibilidade dolorosa. A continuação dos nossos estudos é necessária para comprovar esse efeito e o envolvimento dos receptores NMDA periféricos.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, D. F. de. **Estudo da analgesia induzida por administração de antagonista de receptores NMDA - comparação entre a administração central (intratecal) e periférica (gânglio da raiz dorsal) em modelos de dor e hiperalgesia em ratos.** Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia- MG, 2019.

ATASEVEN, N. et al. Genotoxicity of monosodium glutamate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 91, p. 8–18, 2016.

BASBAUM, A. I. et al. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267–284, 2009.

BATTEZZATI, A.; BRILLON, D. J.; MATTHEWS, D. E. Oxidation of glutamic acid by the splanchnic bed in humans. **Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 269, n. 2, p. E269–E276, 1995.

CACCIA, S. et al. Plasma and brain levels of glutamate and pyroglutamate after oral monosodium glutamate to rats. **Toxicology Letters**, v. 10, n. 2-3, p. 169–175, 1982.

CHAKRABORTY, S. P. Patho-physiological and toxicological aspects of monosodium glutamate. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 29, n. 6, p. 1–35, 2018.

CATERINA, M. J. et al. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. **Science**, v. 288, n. 5464, p. 306–313, 2000.

DELLAROZA, M. S. G. et al. Caracterização da dor crônica e métodos analgésicos utilizados por idosos da comunidade. **Revista da Associação Médica brasileira**, v. 54, n. 1, p. 36–41, 2008.

DEVOR, M. Unexplained peculiarities of the dorsal root ganglion. **Pain**, suppl. 6, p. S27–35, 1999.

FERNSTROM, J. D. Monosodium Glutamate in the Diet Does Not Raise Brain Glutamate Concentrations or Disrupt Brain Functions. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 73, suppl. 5, p. 43–52, 2018.

FERRARI, L. F. et al. Inflammatory sensitization of nociceptors depends on activation of NMDA receptors in DRG satellite cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 111, n. 51, p. 18363–18368, 2014.

Food and Drug Administration - FDA. **Monossodium glutamate**. 2012. Disponível em <<https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/questions-and-answers-monosodium-glutamate-msg>>. Acesso em 04 dez. 2019.

HAWKINS, B. T.; DAVIS, T. P. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. **Pharmacological Reviews**, v. 57, n. 2, p. 173–185, 2005.

HAWKINS, R. A. The blood-brain barrier and glutamate. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, n. 3, p. 867S–874S, 2009.

HOLTON, K. F. et al. The effect of dietary glutamate on fibromyalgia and irritable bowel symptoms. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 30, n. 6, suppl. 74, p. 10–17, 2012.N

HOLTON, K. F.; NDEGE, P. K.; CLAUW, D. J. Dietary correlates of chronic widespread pain in Meru, Kenya. **Nutrition**, v. 53, p. 14–19, 2018.

KURIHARA, K. Glutamate: from discovery as a food flavor to role as a basic taste (umami). **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, n. 3, p. 719S–722S, 2009.

MALULY, H. D. D.; ARISSETO-BRAGOTTO, A.P.; REYES, F. G. R. Monosodium glutamate as a tool to reduce sodium in foodstuffs: Technological and safety aspects. **Food Science & Nutrition**, v. 5, n. 6, p. 1039–1048, 2017.

MENDES, D. R. **Ativação de receptores NMDA no gânglio da raiz dorsal de ratos na dor aguda – envolvimento de fibras do tipo C**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia- MG, 2017.

NIAZ, K.; ZAPLATIC, E.; SPOOR, J. Extensive use of monosodium glutamate: A threat to public health? **EXCLI Journal**, v. 17, p. 273–278, 2018.

NISHIGAKI, R. et al. Monossodium glutamate ingestion during the development period reduces aggression mediated by the vagus nerve in a rat model of attention deficit-hyperactivity disorder. **Brain Research**, v. 1690, p. 40–50, 2018.

ONAOLAPO, O. J. et al. Evidence of alterations in brain structure and antioxidant status following 'low-dose' monosodium glutamate ingestion. **Pathophysiology**, v. 23, n. 3, p. 147–156, 2016.

PETRENKO, A. B. et al. The role of N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptors in pain: a review. **Anesthesia & Analgesia**, v. 97, n. 4, p. 1108–1116, 2003.

ROJAS, H. A.; NERI, I. P. Glutamato para principiantes. **Archivos de Neurociencias**, v. 21, n. 3, p. 25–28, 2016.

SHIMADA, A. et al. Differential effects of repetitive oral administration of monosodium glutamate on interstitial glutamate concentration and muscle pain sensitivity. **Nutrition**, v. 31, n. 2, p. 315–323, 2015.

SMITH, Q. R. Transport of glutamate and other amino acids at the blood-brain barrier. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 1016S–1022S, 2000.

STEGINK, L. D.; FILER, L. J.; BAKER, JR. A. L. Effect of starch ingestion on plasma glutamate concentrations in humans ingesting monosodium L-glutamate in soup. **Journal of Nutrition**, v. 115, n. 2, p. 211–218, 1985.

VIVANCOS, G. G. et al. An electronic pressure-meter nociception paw test for rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 3, p. 391–399, 2004.

WILLARD, S. S.; KOOCHKPOUR, S. Glutamate, glutamate receptors, and downstream signaling pathways. **International Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 9, p. 948–959, 2013.

ZANFIRESCU, A. et al. Chronic monosodium glutamate administration induced hyperalgesia in mice. **Nutrients**, v. 10, n. 1, p. 1, 2017.

ANEXO



Universidade Federal de Uberlândia

– Comissão de Ética na Utilização de Animais –



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Estudo do efeito do consumo de glutamato monossódico sobre a sensibilidade nociceptiva em ratos.", protocolo nº 034/19, sob a responsabilidade de **Celina Monteiro da Cruz Lotufo** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião 05 de Julho de 2019.

*We certify that the project entitled "Estudo do efeito do consumo de glutamato monossódico sobre a sensibilidade nociceptiva em ratos.", protocol 034/19, under the responsibility of **Celina Monteiro da Cruz Lotufo**, involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research, is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved by ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of July 05th, 2019).*

Vigência do Projeto	Início: 13/08/2019 Término: 13/08/2021
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Rato heterogênico Wistar
Número de animais	120
Peso / Idade	200 g/ 60 dias
Sexo	Fêmeas
Origem / Local	Rede de Biotérios – UFU (REBIR – UFU)
Local onde serão mantidos os animais:	Rede de Biotérios – UFU (REBIR – UFU)

Uberlândia, 12 de Agosto de 2019.


Prof. Dr. Lucio Vilela Carneiro Girão
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Comissão de Ética na Utilização de Animais /UFU
 Coordenador da CEUA
 Portaria Nº 542 DE 30 DE MAIO DE 2019