

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA - CIRURGIA

Vinicius von Diemen

Efeito do Glutamato Monossódico Via Oral
Durante a Gestação e Amamentação na Prole de
Ratas Wistar Prenhas

Orientador: Prof. Dr. Manoel Roberto Maciel Trindade

PORTO ALEGRE

2008

Vinicius von Diemen

**Efeito do Glutamato Monossódico Via Oral
Durante a Gestação e Amamentação na Prole de
Ratas Wistar Prenhas**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina em Cirurgia da Faculdade
de Medicina da Universidade
Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS para obtenção do Título de
Mestre em Medicina: Cirurgia

Orientador: Prof. Dr. Manoel Roberto Maciel Trindade

PORTO ALEGRE

2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

D561e **Diemen, Vinícius von**

Efeito do glutamato monossódico via oral durante a gestação e amamentação na prole de ratas wistar prenhas / Vinicius von Diemen ; orient. Manoel Roberto Maciel Trindade. – 2008.
40 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Cirurgia. Porto Alegre, BR-RS, 2008.

1. Prenhez 2. Glutamato de sódio 3. Aleitamento materno 4. Modelos animais de doenças 5. Ratos Wistar 6. Gravidez I. Trindade, Manoel Roberto Maciel II. Título.

NLM: WQ 175

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, **Jayme**, e à minha mãe, **Ione**, por terem me ensinado a lutar pelos objetivos seguindo os caminhos da honestidade e da integridade.

A toda minha família, pelo estímulo constante e apoio irrestrito em todos os momentos.

À **Tatiana Sudbrack**, por toda compreensão, apoio e paciência durante a execução deste trabalho.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. **Manoel Roberto Maciel Trindade**, Chefe do Serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Professor Associado do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, por ter me orientado neste trabalho, pela constante orientação da minha vida profissional, por todo apoio e incentivo desde a época da residência médica e por todos os ensinamentos e conselhos de vida.

AGRADECIMENTOS

Aos funcionários do Centro de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Às acadêmicas de medicina da UFRGS, **Angélica Sauthier, Vanessa Lopes Almeida e Greyce Berton**, com as quais dividi toda a fase experimental do projeto, pelo auxílio indispensável e dedicação.

À **Daniela Bumaguin**, pelo auxílio, paciência e dedicação durante a análise estatística.

À **Dra. Márcia Vaz**, pelo auxílio na revisão final do trabalho.

RESUMO

Introdução: Obesidade é uma questão de saúde pública em muitos países, inclusive no Brasil. O excesso de peso atinge 1 bilhão de adultos no mundo e, no Brasil, já é um problema maior que a desnutrição. O glutamato monossódico (GMS) é um agente flavorizante utilizado em níveis crescentes nos alimentos industrializados. O GMS administrado em ratos ocasiona obesidade e diminuição do hormônio do crescimento (GH). *Objetivo:* Avaliar o efeito do GMS nos fetos de ratas prenhas através da comparação do peso, comprimento nasal-anal (CNA) e índice de Lee (IL) ao nascimento e com 21 dias de vida. *Métodos:* Utilizamos ratas prenhas da linhagem Wistar divididas em três grupos: grupo controle (GC), G10 e G20. Estes, respectivamente, foram alimentados com ração contendo 0, 10 e 20% de GMS desde o período de acasalamento até o final da amamentação. *Resultados:* O peso e o CNA não foram diferentes entre os grupos ao nascimento. O grupo G20, ao nascimento, teve IL menor que o grupo GC ($p < 0,05$) e, aos 21 dias de vida, apresentou peso e CNA menores que o grupo G10, o qual foi menor que o GC ($p < 0,01$). O grupo G20, aos 21 dias de vida, teve IL semelhante aos outros dois grupos. O percentual de ganho de peso do nascimento ao 21º dia de vida foi menor no G20 em relação aos outros dois grupos ($p < 0,01$). O grupo G20 teve percentual de aumento de CNA do nascimento ao 21º dia de vida menor que o grupo G10, e este menor que o grupo GC ($p < 0,01$). *Conclusões:* O GMS nas concentrações de 10 e 20% na ração de ratas prenhas Wistar apresentou uma relação dose-dependente nas variáveis peso e CNA. Houve diminuição no padrão de ganho de peso e de aumento de CNA do nascimento ao 21º dia de vida com uso de GMS. O IL na prole do grupo G20 aumentou em relação ao do grupo GC após 3 semanas de acompanhamento.

Palavras-chave: Obesidade. Glutamato monossódico. Ratos. Baixa estatura.

ABSTRACT

Objective: Determine the effects of the MSG (monosodium glutamate) in the offspring of pregnant rats through the comparison of the weight, NAL (nasal-anal length) and IL (Index of Lee) at birth and with 21 days of life.

Research Methods & Procedures: We have investigated pregnant Wistar rats and their offspring and divided them into 3 groups: GC, G10 and G20. Each of the groups received 0%, 10% and 20% of MSG, respectively from coupling until the end of the weaning period.

Results: Neither weight nor NAL were different among the groups at birth. The group G20 at birth had an IL lower than the group GC ($p < 0,05$) and with 21 days of life presented weight and NAL lower than the groups G10 and this lower than the GC ($p < 0,01$). Otherwise the G20 at 21 days of life had the IL similar to the other two groups. The weight profit percentage from birth to the 21st day of life was lower in the G20 regarding the other two groups ($p < 0,01$). The G20 had a NAL increase percentage from birth to the 21st day of life lower than the G10 and this lower than the GC ($p < 0,01$).

Conclusions: MSG presented a dose-dependent relation in the variables weight and NAL. It caused a decrease in the growth pattern as well as in the weight gain pattern until the 21st day of life. The IL of the group 20% had an increased in relation to the control group after 3 weeks of follow up.

Keywords: Obesity. Monosodium glutamate. Rats. Short stature. Index of Lee.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - “Cocheiras” e ratos recém-nascidos	19
Figura 2 - Pesagem do rato no dia do nascimento	20
Figura 3 - Medida do comprimento nasal-anal (em cm) no dia do nascimento	20
Figura 4 - Anestesia do rato com 21 dias de vida	21
Figura 5 - Pesagem do rato com 21 dias de vida	21
Figura 6 - Fluxograma com detalhamento dos grupos	22
Figura 7 - Índice de Lee ao nascimento (I Lee Nasc) ($p < 0,05$) e com 21 dias de vida (I Lee 21 dias) ($p = 0,169$)	26
Figura 8 - Percentual de ganho de peso entre os três grupos ($GC \neq G20$ com $p < 0,05$)	27
Figura 9 - Percentual de aumento do CNA do nascimento ao 21º dia de vida entre os três grupos (GC e $G10 \neq G20$ com $p < 0,05$)	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição dos ratos classificados por grupos e número de filhos	25
Tabela 2 - Peso, CNA e IL ao nascimento e 21 dias de vida	25
Tabela 3 - Percentual de aumento de peso e de CNA do nascimento ao 21º dia de vida e consumo de ração e água entre os grupos	27

LISTA DE ABREVIATURAS

GMS	Glutamato monossódico
GH	Hormônio do crescimento
GC	Grupo controle
G10	Grupo 10%
G20	Grupo 20%
CNA	Comprimento nasal-anal
IL	Índice de Lee
I Lee Nasc	Índice de Lee ao nascimento
I Lee 21 dias	Índice de Lee com 21 dias
IMC	Índice de massa corporal
OMS	Organização Mundial da Saúde
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
GLU	Ácido glutâmico
LH	Hormônio luteinizante
TSH	Hormônio tireoestimulante
FSH	Hormônio folículo-estimulante
VMH	Núcleo ventromedial
SNC	Sistema nervoso central
ANOVA	Análise de variância
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
cm	Centímetros
ml	Mililitros

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. JUSTIFICATIVA.....	16
3. OBJETIVOS.....	17
4. MÉTODOS.....	18
4.1 DELINEAMENTO.....	18
4.2 AMOSTRA.....	18
4.3 PROCEDIMENTOS.....	18
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	22
4.5 ASPECTOS ÉTICOS.....	23
5. RESULTADOS.....	24
6. DISCUSSÃO.....	29
7. CONCLUSÕES.....	34
REFERÊNCIAS	35

1. INTRODUÇÃO

Obesidade pode ser definida como excesso de peso com índice de massa corporal (IMC) maior que 30 kg/m². Obesidade mórbida é uma condição mais séria, que está correlacionada com um peso 170% maior que o peso ideal¹ ou, ainda, um IMC maior que 40 kg/m². O número de indivíduos com peso acima do normal está atingindo proporções epidêmicas no mundo, trazendo malefícios à saúde e menor longevidade². As conseqüências clínicas adversas da obesidade são tão deletérias que um aumento de 20% acima do peso ideal está associado com 20% de aumento da taxa de mortalidade³. A etiologia da obesidade é multifatorial e, em muitos países, já é considerada um problema de saúde pública, inclusive no Brasil⁴. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS)⁵, “(...) a obesidade alcançou proporções epidêmicas globais, com mais de 1 bilhão de adultos com excesso de peso. Desse grupo, 300 milhões apresentam obesidade clínica. (...) As taxas de obesidade triplicaram, comparadas com dados de 1980, colhidos nos países da América do Norte, Reino Unido, Europa Oriental, Oriente Médio, Ilhas do Pacífico, Austrália e China”⁵⁻¹³. Nos EUA, sua prevalência mais que dobrou entre os anos de 1960 e 2000 e está atingindo cerca de 30% da população^{1,3,14}. No Canadá, entre os anos de 1970 e 1992, os índices de obesidade cresceram de 8% nos homens e 13% nas mulheres para 13 e 15%, respectivamente¹². No Reino Unido, de 6 e 8% em 1980 para 23 e 25% em 2002, respectivamente¹⁰. A OMS⁵ refere que “a obesidade é responsável por 2 a 6% do custo total de atenção à saúde em vários países em desenvolvimento”. A situação do Brasil pode ser vista através do relatório de comunicação social de 16/12/2004 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)⁴, que divulgou a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 2002-2003, demonstrando que o excesso de peso na população

brasileira já é um problema de maior magnitude do que a desnutrição. A frequência do excesso de peso na população supera em oito vezes o déficit de peso entre as mulheres e em 15 vezes o da população masculina. Em um universo de 95,5 milhões de pessoas de 20 anos ou mais, há 3,8 milhões (4,0%) com déficit de peso e 38,8 milhões (40,6%) com excesso de peso, das quais 10,5 milhões são consideradas obesas. Esse padrão é reproduzido, com poucas variações, na maioria dos grupos populacionais analisados no país. Comparando com o relatório de 30 anos atrás, verifica-se menor déficit e maior excesso de peso e obesidade, especialmente entre homens. Os percentuais de déficits de peso vêm declinando ao longo do tempo, tanto para homens quanto para mulheres. Entre as décadas de 1970 e de 1980, esse déficit caiu 50%, mostrando pequena redução a partir de 1989⁴. Devido principalmente a esses motivos, nos últimos anos tem aumentado muito o interesse em avançar no conhecimento sobre os mecanismos envolvidos no aparecimento, manutenção e aumento da obesidade mundial.

Hermanussen *et al.*¹⁵, em estudo observacional realizado na Alemanha, evidenciou que mulheres jovens obesas mórbidas têm estatura inferior à média da população. O mesmo estudo também evidenciou que a altura média dos bebês recém-nascidos na Alemanha é progressivamente menor quando o IMC da mãe é maior que 38 kg/m².

Existem dois estudos em humanos analisando os possíveis efeitos que o consumo de ácido glutâmico/glutamato monossódico (GLU/GMS) na alimentação pode ocasionar. Em 1989, Carlson *et al.*¹⁶ demonstrou que uma dose única de GLU, equivalente ao consumo de 1 dia inteiro dessa substância, aumentou os níveis de prolactina e cortisol e não alterou os níveis de hormônio luteinizante (LH), hormônio do crescimento (GH) e hormônio tireostimulante (TSH) em um período de 150 min. Em 2000, Fernstrom¹⁷ administrou GMS via oral e não encontrou alterações nos níveis de

prolactina, cortisol, LH, hormônio folículo-estimulante (FSH), GH e TSH. Esse estudo também evidenciou um aumento de 11 vezes na concentração de GLU após administração de GMS via oral e não demonstrou aumento significativo de GLU após ingestão de uma dieta rica em proteínas. Os achados conflitantes dos estudos permanecem inexplicados.

O GMS é um aminoácido não essencial encontrado em alimentos com grande quantidade de proteína, como carnes, peixes, queijos e vegetais. Seu gosto, quando detectado pelas papilas gustativas, sinaliza a presença de proteína na dieta. O GMS é adicionado artificialmente aos alimentos que atua salientando o gosto (age abrindo as papilas gustativas) e, conseqüentemente, pode elevar o consumo alimentar^{18,19}. Evidências eletrofisiológicas e comportamentais desde 1980 defendem que o GMS representa o quinto gosto básico, ou seja, não é doce, azedo, salgado ou amargo, nem qualquer combinação desses gostos²⁰. O GMS é considerado um agente flavorizante, sendo amplamente usado em alimentos industrializados. Sua produção saltou de 200.000 toneladas/ano em 1969 para 800.000 toneladas/ano em 2001, o que reflete seu crescente uso na indústria alimentícia^{15,21}. O GLU, metabólito do GMS, age no metabolismo intermediário e como constituinte das proteínas em todas as células do corpo, além de agir no cérebro como um neurotransmissor excitatório. A maior quantidade de GLU que ingerimos diariamente é proveniente principalmente das proteínas da dieta. Uma pequena quantidade está presente nos alimentos como glutamato livre e GMS. Este é constituinte natural de alguns alimentos, ou é adicionado artificialmente como forma de agente flavorizante¹⁷.

Pesquisadores de todo o mundo têm envidado esforços visando o entendimento da fisiopatologia da obesidade. Nos últimos anos, foram criados vários modelos de animais obesos, principalmente em ratos. Por exemplo, podemos induzir obesidade em

ratos com alterações neuroendócrinas, dietéticas e genéticas^{22,23}. Na literatura, encontram-se alguns modelos de indução de obesidade em ratos, como, por exemplo, lesão do núcleo hipotalâmico ventromedial (VMH), que pode ser obtida de duas formas (administração de GMS ou lesão elétrica direta)^{14,22,24,25}, ooforectomia²⁶, alimentação com dietas hipercalóricas^{3,27,28} e manipulação genética para obesidade²⁹⁻³⁴.

O estudo desses modelos tem mostrado que é o sistema nervoso central (SNC) quem regula o gasto de energia e a ingestão de comida e, ainda, tem identificado as inter-relações entre os glicocorticóides adrenais, o sistema nervoso autonômico e o comportamento alimentar no desenvolvimento da obesidade^{22,23}.

Uma das teorias da obesidade está relacionada ao GMS. Sabe-se, através de estudos experimentais em ratos, que o GMS administrado via subcutânea em neonatos leva à lesão de núcleos hipotalâmicos³⁵⁻⁴¹. Quando o GMS é administrado por via oral em ratas prenhas, pode também ocasionar alterações no hipotálamo da prole com suas conseqüências, como diminuição da secreção de GH e obesidade, entre outras^{15,21}. A teoria da obesidade relacionada ao GMS surge do conhecimento do grande aumento da sua produção mundial nas últimas décadas, do seu uso crescente e indiscriminado em alimentos industrializados, do aumento do consumo desse tipo de alimento e do aumento progressivo da obesidade em todos os continentes^{6-13,15,42-49}. Acredita-se que as mulheres grávidas estejam expostas a essa substância e, por conseqüência, estariam consumindo cada vez mais GMS durante a gestação, podendo se relacionar com a obesidade futura do recém-nascido, o qual teria sofrido algum tipo de lesão hipotalâmica ainda no útero materno. Um consenso sobre GMS de 2007²⁰ refere que a barreira placentária controla a passagem de GLU do plasma materno para o feto, metabolizando-o antes de atingir a circulação fetal. Em estudo realizado em macacas rhesus grávidas, foi demonstrado que seria necessária uma concentração sérica materna

muito elevada de GLU, de cerca de 2.800 $\mu\text{mol/l}$, para que ocorresse passagem de GLU da mãe para o feto⁵⁰.

A grande similaridade e homologia entre os genomas dos roedores e dos humanos tornam os modelos animais uma importante ferramenta para o estudo de condições que nos afetam e que podem ser simuladas em ratos. Assim, esses animais permitem que tenhamos respostas em curtos períodos de tempo, pois 10 dias de vida dos ratos representam aproximadamente 1 ano em humanos quando comparamos alterações de peso corporal³. A lesão hipotalâmica que o GMS ocasiona em ratos quando administrado por via parenteral levando à obesidade é conhecida, mas pouco se sabe quando ele é administrado por via oral^{15,21,51}. Tingxi Yu *et al.*⁵² realizaram estudo utilizando ratas Kunming prenhas que receberam GMS marcado por via oral no final da gestação (17-19 dias de um total de 21 dias). Alguns ratos foram mortos logo após administração de GMS (30, 60, 90 e 120 min), e os órgãos das ratas e dos fetos foram analisados quanto à concentração de GMS. Este foi encontrado no SNC, fígado, placenta e rins da mãe e dos fetos.

Hermanussen *et al.*¹⁵ utilizaram GMS em ratas prenhas a partir da terceira semana de gestação (de um total de 3 semanas, o que seria equivalente ao 3º trimestre em humanos) e encontrou, entre outras alterações, menor peso e menores níveis de GH nos grupos de intervenção com GMS.

2. JUSTIFICATIVA

A suscetibilidade dos primatas ao GMS parece ser menor que a dos roedores⁵². Entretanto, estudos em ratos, camundongos, porcos e macacos com administração de GMS tanto oral quanto subcutâneo logo após o nascimento demonstraram que ocorre lesão neuronal no hipotálamo⁵²⁻⁵⁴. Os estudos em animais só avaliam o GMS a partir da 2^a-3^a semana gestacional^{15,52}, e não há referência desde o período de acasalamento. Os dados são muito conflitantes e, mesmo no consenso de 2007²⁰, não ficam claras as alterações que o GMS pode ocasionar se utilizado por via oral.

A população está consumindo quantidades crescentes de GMS, que vem adicionado a nossa alimentação diariamente¹⁹. Devido a questões éticas, não há estudos em humanos que avaliem a toxicidade do GMS ingerido por mulheres durante o período gestacional e pré-gestacional. Com o intuito de mimetizar a exposição ao GMS na vida atual, conduzimos um estudo inédito em ratos ao administrarmos GMS desde o período inicial de acasalamento, continuando na gestação e incluindo o período de amamentação (até o 21^o dia de vida).

3. OBJETIVOS

GERAL:

Avaliar o efeito do GMS nos fetos de ratas prenhas durante a gestação e a amamentação.

ESPECÍFICOS:

Comparar o peso, comprimento nasal-anal (CNA) e o índice de Lee (IL) ao nascimento e com 21 dias de vida da prole de ratas alimentadas com ração contendo GMS.

Comparar o percentual de aumento de peso e de CNA do nascimento ao 21º dia de vida da prole de ratas alimentadas com ração contendo GMS.

Avaliar se o GMS interfere no consumo de água e ração das ratas mães no período gestacional.

4. MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO

Estudo experimental controlado.

4.2 AMOSTRA

O tamanho da amostra foi calculado pelo programa PEPI versão 4.0. Os parâmetros utilizados foram os seguintes: poder de 90%, erro alfa de 0,05 para detecção de diferença mínima de 1 desvio padrão entre os grupos. Obteve-se um tamanho amostral estimado de 23 ratos em cada grupo.

Foram utilizados 29 animais da espécie *Rattus norvegicus albinus* de linhagem Wistar, sendo 20 ratas fêmeas e nove ratos machos em idade reprodutiva (maior que 60 dias de vida), oriundos do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (UFRGS). O estudo foi conduzido no Centro de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os ratos ficaram acomodados em caixas de plástico individualmente em um regime de luz acesa e apagada a cada 12 horas.

4.3 PROCEDIMENTOS

A alimentação dos ratos foi confeccionada através da trituração da ração padrão para ratos (Nuvilab CR2 ratos, Nuvital Nutrientes S.A., Colombo, PR, Brasil)

adicionando-se o GMS nas concentrações de 0, 10 e 20%. Os ratos foram divididos em três grupos, de acordo com a ração que recebiam: grupo controle (GC), grupo 10% (G10) e grupo 20% (G20). A ração foi ofertada aos ratos em pequenas “cocheiras” confeccionadas para tal (Figura 1). O consumo de ração e de água, que foram oferecidos sempre com livre acesso, foi medido durante todo o experimento. Após sete dias de acasalamento, as ratas prenhas foram colocadas em caixas separadas, e o controle alimentar e de água passou a ser individual e diário até a data do nascimento, sempre ao meio-dia.

No dia do nascimento e até o 21º dia de vida, foram realizadas as aferições do peso, CNA e consumo de água e ração. Ao término desse período, os filhotes foram anestesiados com isoflurano³ para novas aferições (Figuras 2, 3, 4, 5 e 6) e submetidos a eutanásia através da câmara de CO₂.

Figura 1. “Cocheiras” e ratos recém-nascidos.



Figura 2. Pesagem do rato no dia do nascimento.

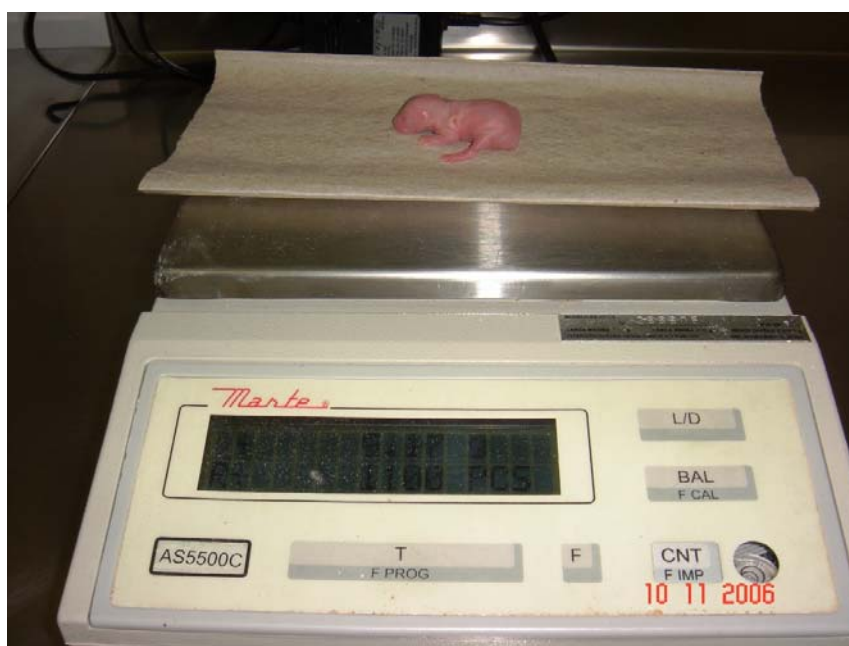


Figura 3. Medida do comprimento nasal-anal (em cm) no dia do nascimento.



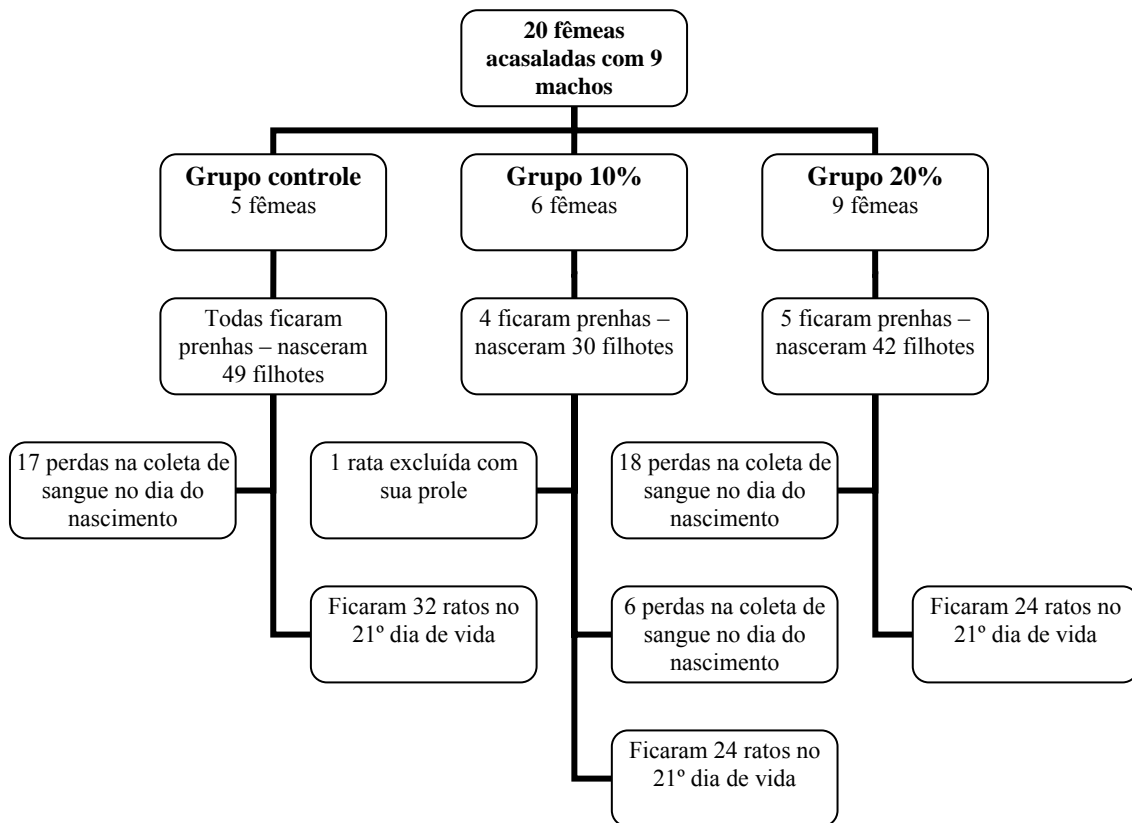
Figura 4. Anestesia do rato com 21 dias de vida.



Figura 5. Medida do comprimento nasal-anal (em cm) com 21 dias de vida.



Figura 6. Fluxograma com detalhamento dos grupos



4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis quantitativas foram descritas pela média e desvio padrão. Estas variáveis foram comparadas entre os grupos pelo teste de análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey para realização das comparações múltiplas. Foram comparadas as médias ao longo do tempo e a variação no tempo dos grupos pelo teste ANOVA para medidas repetidas. Foram comparadas as médias do rato excluído *versus* as médias dos outros ratos do mesmo grupo pelo teste *t* de Student para amostras independentes. Foi utilizado um nível de significância de 5%.

4.5 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado pela Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde vinculada ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Foram seguidas as normas técnicas e diretrizes internacionais para pesquisa em animais.

4. RESULTADOS

Após serem colocadas 20 fêmeas em acasalamento, obtivemos 14 ratas prenhas e um total de 121 nascimentos, de acordo com a Tabela 1.

Peso (em g) e CNA (em cm) no dia do nascimento com suas respectivas médias e desvios padrão podem ser visualizados na Tabela 2. Não houve diferença nesses parâmetros ao nascimento na comparação entre os grupos.

O peso (em g) e CNA (em cm) no 21º dia de vida com suas respectivas médias e desvios padrão foram: 25,2 (3,14); 23,2 (2,08) e 16,6 (1,97) ($p < 0,01$) e 9,4 (0,44); 9,1 (0,26) e 8,1 (0,34) ($p < 0,01$) nos respectivos grupos GC, G10 e G20. Após comparação dos grupos dois a dois (teste de Tukey), verificamos que os três grupos são diferentes entre si e apresentam valores decrescentes para aumento de peso e de CNA na seguinte ordem: grupo GC, G10 e G20, conforme a Tabela 2.

O IL é o equivalente nos ratos ao IMC usado em humanos. Ao nascimento e com 21 dias de vida para os grupos GC, G10 e G20 com média e desvio padrão, os valores de IL foram, respectivamente, 367 (17,2); 361,4 (9,2) e 358,8 (12,2) ($p < 0,05$) e 311 (9,65); 314,8 (5,27) e 313,3 (4,6). Ao nascimento, houve diferença somente entre os grupos GC e G20, de acordo com a Tabela 2 e Figura 7.

Tabela 1. Descrição dos ratos classificados por grupos e número de filhos.

<i>GRUPO</i>	<i>PRENHA</i>	<i>FILHOS</i>	<i>TOTAL NASC GRUPO*</i>	<i>MÉDIA NASC GRUPO**</i>
GC ¹	SIM	6		
GC	SIM	9		
GC	SIM	10		
GC	SIM	11		
GC	SIM	13	49	9,8
G10 ²	NÃO	0		
G10	NÃO	0		
G10 ^{***}	SIM	5 (excluída)		
G10	SIM	6		
G10	SIM	8		
G10	SIM	11	30	8,3
G20 ³	NÃO	0		
G20	NÃO	0		
G20	NÃO	0		
G20	NÃO	0		
G20	SIM	7		
G20	SIM	8		
G20	SIM	9		
G20	SIM	9		
G20	SIM	9	42	8,4
TOTAL	20	14	121	121

*Total de nascimento por grupo.

**Média de nascimento por grupo após as exclusões (uma do G10 e as ratas não prenhas).

***Excluída por ter tido uma ninhada de número reduzido e ser diferente do grupo.

¹GC = Grupo controle.

²G10 = Grupo 10%.

³G20 = Grupo 20%.

Tabela 2. Peso, CNA e IL ao nascimento e aos 21 dias de vida.

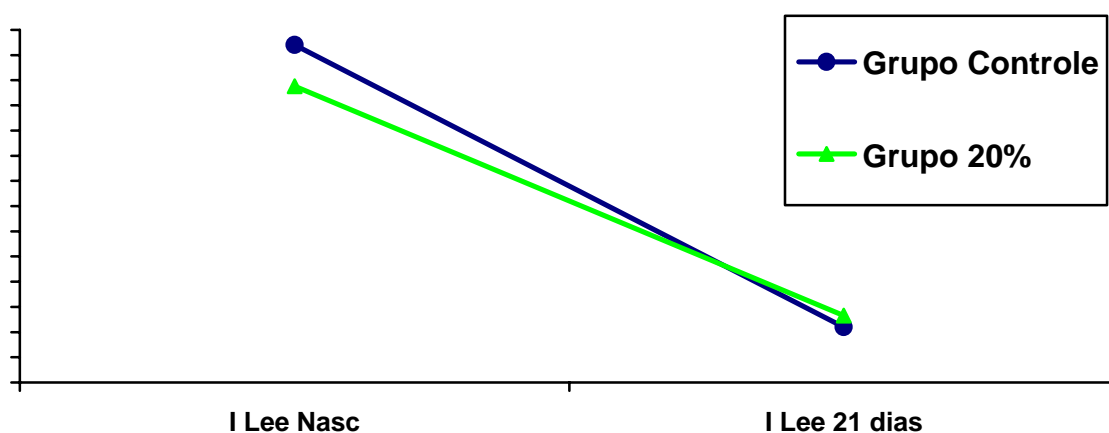
	GRUPO CONTROLE Média (DP)^a	GRUPO 10% Média (DP)	GRUPO 20% Média (DP)	ANOVA p
Peso nasc¹	6,08(0,52)	6,03(0,61)	5,84(0,49)	0,091
CNA nasc	4,98(0,27)	5,03(0,21)	5,02(0,24)	0,61
IL² nasc	367(17,2) ^{a**}	361,4(9,2)	358,8(12,2) ^b	< 0,05
Peso 21d³	25,2 (3,14) ^a	23,2(2,08) ^b	16,6(1,97) ^c	< 0,01
CNA⁴ 21d	9,4(0,44) ^a	9,1(0,26) ^b	8,1(0,34) ^c	< 0,01
IL 21d	311(9,65)	314,8(5,27)	313,3(4,6)	0,179

Comparação dos grupos pelo ANOVA seguido de Tukey para comparações múltiplas, onde ** a#b#c para p < 0,05.

^aDP = desvio padrão

1 = nascimento, 2 = índice de Lee, 3 = dias, 4 = comprimento nasal-anal em cm.

Figura 7. Índice de Lee ao nascimento (I Lee Nasc) ($p < 0,05$) e com 21 dias de vida (I Lee 21 dias) ($p = 0,179$)



O percentual de aumento de peso do nascimento ao 21º dia de vida entre os três grupos apresentou diferença entre os grupos GC e G10 comparados ao G20 ($p < 0,01$), o qual teve ganho percentual menor que os demais, conforme dados sumarizados na Tabela 3 e Figura 8.

O percentual de aumento do CNA do nascimento até o 21º dia de vida entre os grupos evidencia um percentual de ganho decrescente entre os grupos GC, G10 e G20, respectivamente ($p < 0,01$), de acordo com os dados apresentados na Tabela 3 e Figura 9.

O consumo de ração teve média e desvio padrão de 22,6 g (7,25); 24,8 g (6,49) e 22,4 g (5,92) nos grupos GC, G10 e G20, respectivamente (Tabela 3). Não houve diferença estatística entre os grupos.

O consumo médio (desvio padrão) de água em ml foi de 42,1 (12,02); 62,8 (10,77) e 73,0 (23,71), respectivamente, nos grupos GC, G10 e G20 ($p < 0,01$). O consumo de água foi crescente entre os grupos GC, G10 e G20, nessa ordem, conforme dados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Percentual de aumento de peso e de CNA do nascimento ao 21º dia de vida e consumo de ração e água entre os grupos.

	GRUPO CONTROLE Média (DP) ¹	GRUPO 10% Média (DP)	GRUPO 20% Média (DP)	ANOVA p
% ganho Peso nasc ao 21d	321,7 (61,2) ^{a**}	299,7 (31,9) ^a	189,7 (57) ^b	< 0,01
% aumento CNA ¹ nasc ao 21d	93,2 (11,02) ^a	81,76 (7,14) ^b	62,74 (12,75) ^c	< 0,01
Consumo ração em g ²	22,6 (7,25)	24,8 (6,49)	22,4 (5,92)	0,14
Consumo água em ml ³	42,1 (12,02) ^a	62,8 (10,77) ^b	73,0 (23,71) ^c	< 0,01

Comparação dos grupos pelo ANOVA seguido de Tukey para comparações múltiplas, onde ** a≠b≠c para p < 0,05.

¹DP = desvio padrão.

1 = comprimento nasal-anal em cm, 2 = gramas e 3 = mililitros.

Figura 8. Percentual de ganho de peso entre os três grupos (GC e G10 > G20, p < 0,01).

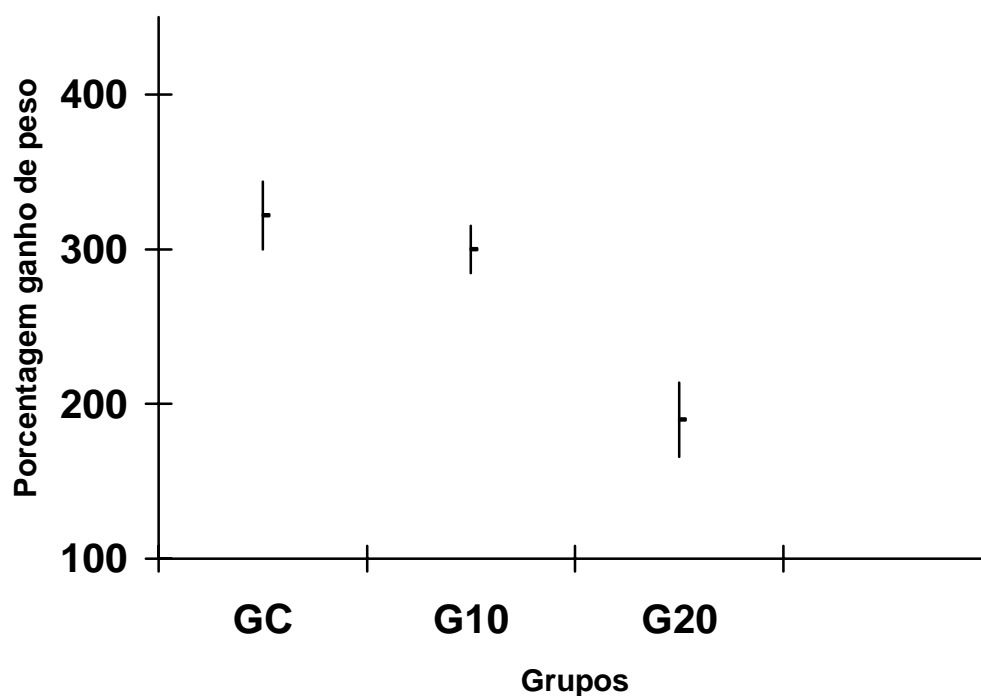
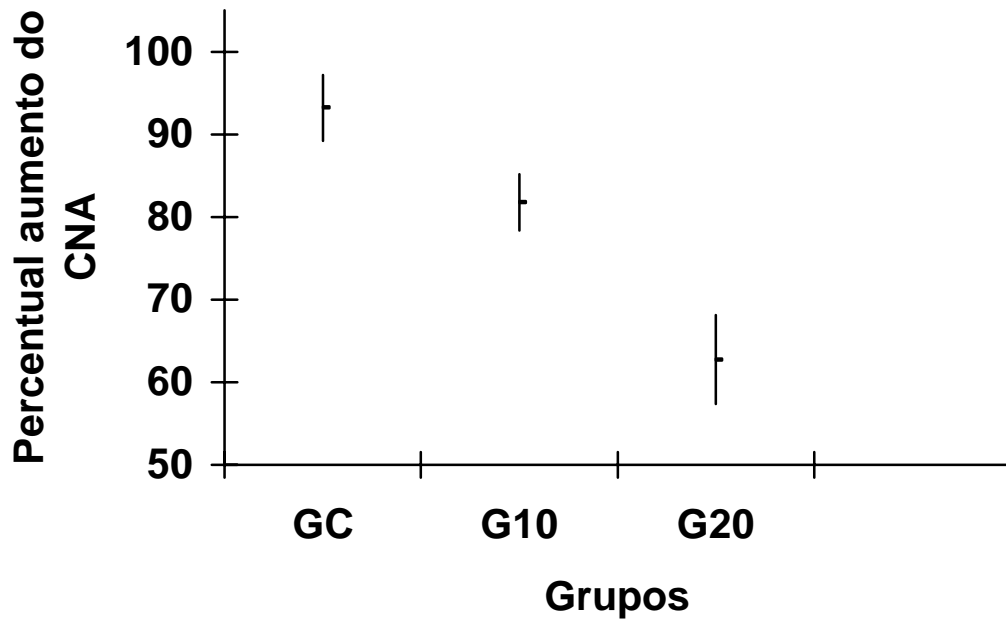


Figura 9. Percentual de aumento do CNA do nascimento ao 21º dia de vida entre os três grupos (GC > G10 > G20 com $p < 0,01$).



5. DISCUSSÃO

Na literatura, as formas de administração de GMS por via oral são através da água⁵² e confecção de *pellets* de ração contendo GMS¹⁵. Em nosso projeto piloto, foi tentada a administração de GMS solubilizado em meio líquido através do método de gavagem (passagem de sonda orogástrica) para administração de uma quantidade fixa e controlada de GMS. Não foi possível devido ao volume muito grande da solução em relação ao volume do estômago dos ratos. Nessa fase, também foi tentado triturar a ração de ratos que vem em formato de “*pellets*/rolhas”, adicionar as concentrações desejadas de GMS e refazer as “rolhas” conforme o estudo de Hermanussen *et al.*¹⁵ e orientação do próprio autor após contato por correio eletrônico. Não conseguimos reproduzir esse método porque as “novas rolhas” ficavam quebradiças, dificultando a oferta aos ratos. Ainda nessa fase, resolvemos triturar e acrescentar GMS na ração moída e oferecer aos ratos em pequenas “cocheiras” confeccionadas para tal. Essa forma de administração de GMS mostrou-se eficaz, pois os ratos comiam o farelo de ração contendo GMS sem realizar seleção dos grânulos. Portanto, essa foi a maneira eleita para administração de GMS aos ratos (Figura 1).

A análise dos dados demonstra que tanto o peso quanto o CNA da prole com 21 dias de vida são significativamente menores quando se compara o G20 com o G10, e este com o GC. Essas duas medidas alteraram-se de acordo com a concentração de GMS na dieta, ou seja, conforme o aumento de GMS (10 e 20%) ocorreu diminuição do peso e CNA aos 21 dias de vida. Peso e CNA de nascimento entre os três grupos não diferiram significativamente. Entretanto, na análise bruta dos dados, podemos observar que o peso de nascimento do G20 parece ser menor que os demais grupos. Talvez essa

diferença não tenha sido demonstrada devido à pequena magnitude da medida (décimos de gramas) e relativamente pequeno tamanho amostral.

Os dados de peso e CNA, além de serem analisados separadamente, também foram avaliados através do IL e do percentual de aumento do nascimento até o 21º dia de vida. O IL é o equivalente, para os ratos, ao IMC usado em humanos, o qual leva em consideração a distribuição de massa pela superfície corporal. O IL nos ratos é calculado através da raiz cúbica do peso (em g) dividida pela altura (em cm) (distância nasal-anal - CNA) e multiplicada por 1.000^{25,55,56}. O IL ao nascimento no GC é significativamente maior que o do G20 (**p < 0,05**). Porém, quando acompanhamos esses ratos até o 21º dia de vida, verificamos que o crescimento (CNA) e o aumento de peso não ocorrem da mesma maneira nesses dois grupos, pois o IL com 21 dias é semelhante entre eles, ou seja, nesse período o grupo G20 ganhou mais massa corpórea, relativa à sua superfície corporal, em comparação ao grupo GC. Isso demonstra um aumento no IL nos ratos filhos de mães alimentadas com ração contendo 20% de GMS até o 21º dia de vida. Extrapolando esses dados para o futuro, teríamos uma tendência de aumento no IL dos ratos do grupo G20 ao longo do tempo (Figura 7). Esses dados vêm de encontro ao que se esperaria consultando a literatura^{15,25,56}. Hermanussen *et al.*¹⁵, administrando GMS na 3ª semana de gestação, demonstrou resultados semelhantes com menor peso ao nascimento e com 30 dias de vida no grupo de intervenção, utilizando uma dose de 5 g de GMS por via oral. Essa dose é próxima à que usamos no grupo 20%, que consumia em torno de 22 g de ração por dia, cerca de 4,5 g de GMS. Nakagawa *et al.*²⁵ usaram GMS via intraperitoneal nos recém-nascidos e avaliaram com 10 semanas de vida. Também evidenciaram menor peso e estatura e maior IL em relação aos controles. Souza *et al.*⁵⁶, utilizando GMS via subcutânea em recém-nascidos, encontraram, já no 30º dia de vida, menor CNA e maior IL no grupo intervenção em relação ao controle.

O percentual de aumento de CNA do dia do nascimento ao 21º dia de vida evidencia que o grupo G20 tem crescimento significativamente menor que o G10 e este, por sua vez, é menor que o GC. Observamos uma curva dose-dependente em relação ao GMS, pois o percentual de crescimento do grupo G10, além de ser diferente do G20 e GC, possui um valor intermediário entre eles (Tabela 3 e Figura 9).

Em relação ao percentual de aumento de peso, verificamos uma tendência de que possa haver também uma relação dose-dependente. Apesar de não haver diferença estatística entre o G10 e os outros grupos, o G10 tem um valor absoluto intermediário entre o GC e o G20, os quais são diferentes estatisticamente ($p < 0,01$). Esses achados são semelhantes aos de Hermanussen *et al.*¹⁵, que encontraram diferença no peso de filhotes de mães alimentadas com concentrações entre 2,5 e 5 g de GMS. Conforme já mencionado acima, utilizamos doses de GMS neste estudo muito próximas às utilizadas por Hermanussen *et al.* Contrariamente, no estudo de Tingxi Yu *et al.*⁵², não foi encontrada relação de dose-dependência nos fetos entre as duas doses utilizadas, que foram em torno de 0,62 e 1 g de GMS nas ratas prenhas do 17º ao 21º dia de gestação e durante todo o período gestacional (Tabela 3 e Figura 8).

Os achados na literatura analisando o GMS e o consumo de ração são conflitantes. Alguns estudos demonstram diminuição do consumo de ração no grupo que utiliza GMS^{25,57,58} e, em outros, aparece aumento do consumo^{15,19,21}. Os artigos que demonstram hipofagia com o uso de GMS utilizaram administração subcutânea neonatal e avaliaram o apetite após 10 e 20 semanas ou após 30 a 150 dias da intervenção^{25,57,58}. Aqueles que evidenciaram maior consumo de dieta utilizaram o GMS por via oral, sendo que Diniz *et al.*¹⁹ começaram a intervenção com 21 dias de vida e avaliaram o consumo após 45 dias. Outros dois artigos^{15,21} utilizaram GMS na gestação, a partir da 2ª e 3ª semana de gestação. O primeiro mediu consumo a partir de 30 dias de

vida até 90 dias, e o segundo avaliou com 90 dias de vida. Todos esses estudos avaliaram o consumo de ração dos filhotes após desmame. A literatura evidencia que o GMS dado por via oral para ratos aumenta seu consumo total de ração após o desmame. Não encontramos na literatura se a adição de GMS na ração de ratas prenhas modificaria o seu próprio consumo. Não houve diferença de consumo alimentar entre os três grupos de ratas prenhas. Esse dado fortalece os resultados do presente estudo, pois, se houvesse diferença, poderia enviesar os resultados de peso e CNA dos recém-nascidos, atuando como fator de confusão.

Na literatura, quanto ao consumo de água e alimentar, somente há referência para a prole após o desmame, quando há maior consumo de água com o uso de GMS na ração materna na 3ª semana de gestação¹⁵. Avaliamos a ingestão de água da rata prena durante a gestação. Houve uma relação dose-dependente, pois o consumo de água foi crescente entre os grupos GC, G10 e G20. Não acreditamos que esse dado possa ter influenciado os desfechos principais do estudo. O consumo maior de água paralelo à concentração de GMS na ração provavelmente está relacionado ao componente de sódio no GMS.

Olney, em 1969⁵⁹, utilizando injeção subcutânea de GMS em camundongos recém-nascidos, evidenciou esterilidade das fêmeas. Tingxi Yu *et al.*⁵² administraram GMS por via oral para camundongas prenhas no final da gestação e não encontraram alteração na fertilidade da prole. Stegink⁵⁰, avaliando a transferência placentária de GMS em macacos, evidenciou que a placenta seria virtualmente impermeável a essa substância e permitiria apenas a passagem de seus metabólitos. No entanto, doses 70 vezes além do normal, cerca de 2.800 µmol/l resultaram em transferência para a circulação fetal. Apesar de alguns dados conflitantes em animais⁶⁰⁻⁶³, o consenso sobre GMS de 2007²⁰ refere haver uma racional segurança do uso de GMS durante a gestação

em humanos. Utilizamos um número pequeno de fêmeas grávidas para que seja possível realizar afirmações sobre alguma interferência do uso de GMS no aparelho reprodutor. Porém, vendo os dados de forma bruta, observamos que o percentual de êxito no acasalamento foi muito diferente do GC (100%) em relação aos grupos G10 e G20, respectivamente, 66 e 55%. O mesmo ocorreu em relação à natalidade, que foi maior no grupo GC em relação aos demais grupos (Tabela 1). Em relação ao G20, no qual quatro ratas não ficaram prenhas, uma possível explicação, pelo menos em parte, é o fato de que três dessas eram provenientes de uma mesma caixa, ou seja, estiveram expostas ao mesmo rato macho. Uma rata com sua prole foi excluída do grupo G10 devido ao nascimento de poucos filhotes, o que ocasionou uma ninhada com média de peso maior daquela apresentada pelo seu grupo.

A análise do efeito do GMS poderia ter sido avaliada, além das medidas de peso e CNA, também através da dosagem de GH^{15,21}. O GH seria dosado no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Entretanto, após a coleta de sangue dos ratos e encaminhamento para dosagem, nos foi informado que o *kit* disponível para dosagem de GH era para humanos. Mesmo assim foi tentado, mas os resultados foram todos abaixo do nível de detecção. Apesar de não termos avaliado o nível de GH diretamente, tivemos um parâmetro de análise indireta através do CNA.

6. CONCLUSÕES

- a) O peso e o CNA foram semelhantes entre os grupos ao nascimento.
- b) O grupo G20 ao nascimento teve um IL menor que o grupo GC.
- c) O grupo G20 aos 21 dias de vida teve o IL semelhante aos outros dois grupos.
- d) O grupo G20 aos 21 dias de vida apresentou peso e CNA menor que o grupo G10, e este menor que o grupo GC, demonstrando uma relação dose-dependente com o GMS.
- e) O percentual de aumento de peso do nascimento ao 21º dia de vida foi menor no G20 em relação aos outros dois grupos.
- f) O G20 teve percentual de aumento de CNA do nascimento ao 21º dia de vida menor que o grupo G10, e este menor que o GC, evidenciando uma relação dose-dependente com o GMS.
- g) O consumo de ração durante o período gestacional não foi diferente entre os três grupos.
- h) O consumo de água teve relação dose-dependente com o GMS, pois foi maior no grupo G20 em comparação ao G10, e este em relação ao GC.

REFERÊNCIAS

1. Nagle AP, Prystowsky JB. Surgical management of obesity. *Clin Obstet Gynecol* 2004; 47(4):928-941.
2. Livingston EH. Obesity and its surgical management. *The American Journal of Surgery* 2002; 184:103-113.
3. Meguid MM, Ramos EJ, Suzuki S et al. A surgical rat model of human Roux-en-Y gastric bypass. *J Gastrointest Surg* 2004; 8(5):621-630.
4. IBGE - Comunicação Social. 16-12-2004.
Ref Type: Internet Communication
5. Organização Pan Americana da Saúde. Doenças crônicas-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde. 27-34. 2003.
Ref Type: Internet Communication
6. Baskin ML, Ard J, Franklin F, Allison DB. Prevalence of obesity in the United States. *Obesity Reviews* 2005; 6(1):5-7.
7. Neovius M, Janson A, Rossner S. Prevalence of Obesity in Sweden. *Obesity Reviews* 2006; 7(1):1-3.
8. Filozof C, Gonzalez C, Sereday M, Mazza C, Braguinsky J. Obesity prevalence and trends in Latin-American countries. *Obesity Reviews* 2001; 2(2):99-106.
9. Thorburn AW. Prevalence of obesity in Australia. *Obesity Reviews* 2005; 6(3):187-189.
10. Rennie KL, Jebb SA. Prevalence of obesity in Great Britain. *Obesity Reviews* 2005; 6(1):11-12.
11. The burden of overweight and obesity in the Asia-Pacific region. *Obesity Reviews* 2007; 8(3):191-196.
12. Belanger-Ducharme F, Tremblay A. Prevalence of obesity in Canada. *Obesity Reviews* 2005; 6(3):183-186.
13. Milewicz A, Jedrzejuk D, Lwow F et al. Prevalence of obesity in Poland. *Obesity Reviews* 2005; 6(2):113-114.
14. Gobatto CA, Mello MA, Souza CT, Ribeiro IA. The monosodium glutamate (MSG) obese rat as a model for the study of exercise in obesity. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2002; 111(1-4):89-101.
15. Hermanussen M, Garcia 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; 60(1):25-31.

16. Carlson HE, Miglietta JT, Roginsky MS, Stegink LD. Stimulation of pituitary hormone secretion by neurotransmitter amino acids in humans. *Metabolism* 1989; 38(12):1179-1182.
17. Fernstrom JD. Pituitary hormone secretion in normal male humans: acute responses to a large, oral dose of monosodium glutamate. *J Nutr* 2000; 130(4S Suppl):1053S-1057S.
18. Taylor-Burds CC, Westburg AM, Wifall TC, Delay ER. Behavioral comparisons of the tastes of L-alanine and monosodium glutamate in rats. *Chem Senses* 2004; 29(9):807-814.
19. Diniz YS, Faine LA, Galhardi CM et al. Monosodium glutamate in standard and high-fiber diets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats. *Nutrition* 2005; 21(6):749-755.
20. Beyreuther K, Biesalski HK, Fernstrom JD et al. Consensus meeting: monosodium glutamate - an update. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61(3):304-313.
21. Fernandez-Tresguerres Hernandez JA. [Effect of monosodium glutamate given orally on appetite control (a new theory for the obesity epidemic)]. *An R Acad Nac Med (Madr)* 2005; 122(2):341-355.
22. Mozes S, Sefcikov Z, Lenhardt L, Racek L. Effect of adrenalectomy on the activity of small intestine enzymes in monosodium glutamate obese rats. *Physiol Res* 2004; 53(4):415-422.
23. York DA. Lessons from animal models of obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1996; 25(4):781-800.
24. Shimizu Y, Yamazaki M, Nakanish K et al. Enhanced Responses of the Chorda Tympani Nerve to Sugars in the Ventromedial Hypothalamic Obese Rat. *J Neurophysiol* 2003; 90:128-133.
25. Nakagawa T, Ukai K, Ohyama T, Gomita Y, Okamura H. Effects of chronic administration of sibutramine on body weight, food intake and motor activity in neonatally monosodium glutamate-treated obese female rats: relationship of antiobesity effect with monoamines. *Exp Anim* 2000; 49(4):239-249.
26. Chu SC, Chou YC, Liu JY, Chen CH, Shyu JC, Chou FP. Fluctuation of serum leptin level in rats after ovariectomy and the influence of estrogen supplement. *Life Sci* 1999; 64(24):2299-2306.
27. Xu Y, Ramos EJ, Middleton F et al. Gene expression profiles post Roux-en-Y gastric bypass. *Surgery* 2004; 136(2):246-252.
28. Prunet-Marcassus B, Desbazeille M, Bros A et al. Melatonin Reduces Body Weight Gain in Sprague Dawlwy Rats with Diet-Induced Obesity. *Endocrinology* 2003; 144:5347-5352.

29. Brockmann GA, Bevova MR. Using mouse models to dissect the genetics of obesity. *TRENDS in genetics* 18[7], 367-376. 2002.
Ref Type: Generic
30. Carroll L, Voisey J, Van Daall A. Mouse models of obesity. *Clinics in dermatology* 22, 345-349. 2004.
Ref Type: Generic
31. Chagnon Y C, Bouchard C. Genetics of Obesity: advances from rodents studies. *TGI* 12[11]. 1996.
Ref Type: Generic
32. Marques-Lopes I, Marti A, Moreno-Aliaga MJ, Martinez A. Aspectos geneticos da obesidade. *Revista de Nutricao* 17[3], 327-338. 2004.
Ref Type: Generic
33. Mynatt RL, Miltenberger RJ, Klebig ML, et al. Combined effects of insulin treatment and adipose tissue-specific agouti expression on the development of obesity. *Natl Acad Sci USA* 94, 919-922. 1997.
Ref Type: Generic
34. Robinson SW, Dinulesco DM, Cone RD. Genetic models of obesity and energy balance in the mouse. *Annual Review of Genetics* 34, 687-745. 2000.
Ref Type: Generic
35. Dolnikoff M, Martin-Hidalgo A, Machado UF, Lima FB, Herrera E. Decreased lipolysis and enhanced glycerol and glucose utilization by adipose tissue prior to development of obesity in monosodium glutamate (MSG) treated-rats. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25(3):426-433.
36. de Mello MA, de Souza CT, Braga LR, dos Santos JW, Ribeiro IA, Gobatto CA. Glucose tolerance and insulin action in monosodium glutamate (MSG) obese exercise-trained rats. *Physiol Chem Phys Med NMR* 2001; 33(1):63-71.
37. de Carvalho PP, Vargas AM, da Silva JL, Nunes MT, Machado UF. GLUT4 protein is differently modulated during development of obesity in monosodium glutamate-treated mice. *Life Sci* 2002; 71(16):1917-1928.
38. de Souza CT, Nunes WM, Gobatto CA, de Mello MA. Insulin secretion in monosodium glutamate (MSG) obese rats submitted to aerobic exercise training. *Physiol Chem Phys Med NMR* 2003; 35(1):43-53.
39. Kanarek RB, Meyers J, Meade RG, Mayer J. Juvenile-onset obesity and deficits in caloric regulation in MSG-treated rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1979; 10(5):717-721.
40. Shivshankar P, Devi SC. Screening of stimulatory effects of dietary risk factors on mouse intestinal cell kinetics. *World J Gastroenterol* 2005; 11(2):242-248.
41. Bunyan J, Murrell EA, Shah PP. The induction of obesity in rodents by means of monosodium glutamate. *Br J Nutr* 1976; 35(1):25-39.

42. Park HS, Park CY, Oh SW, Yoo HJ. Prevalence of obesity and metabolic syndrome in Korean adults. *Obesity Reviews* 2000; 0(0):???
43. Schokker DF, Visscher TLS, Nooyens ACJ, van Baak MA, Seidell JC. Prevalence of overweight and obesity in the Netherlands. *Obesity Reviews* 2007; 8(2):101-107.
44. Chu NF. Prevalence of obesity in Taiwan. *Obesity Reviews* 2005; 6(4):271-274.
45. Due P, Heitmann BL, Sorensen TIA. Prevalence of obesity in Denmark. *Obesity Reviews* 2007; 8(3):187-189.
46. Al-Kandari YY. Prevalence of obesity in Kuwait and its relation to sociocultural variables. *Obesity Reviews* 2006; 7(2):147-154.
47. Carmo Id, dos Santos O, Camolas J et al. Prevalence of obesity in Portugal. *Obesity Reviews* 2006; 7(3):233-237.
48. Malik M, Bakir A. Prevalence of overweight and obesity among children in the United Arab Emirates. *Obesity Reviews* 2007; 8(1):15-20.
49. Rashidi A, Mohammadpour-Ahramjani B, Vafa MR, Karandish M. Prevalence of obesity in Iran. *Obesity Reviews* 2005; 6(3):191-192.
50. Stegink LD, Pitkin RM, Reynolds WA, Filer LJ, Jr., Boaz DP, Brummel MC. Placental transfer of glutamate and its metabolites in the primate. *Am J Obstet Gynecol* 1975; 122(1):70-78.
51. Frieder B, Grimm VE. Prenatal monosodium glutamate (MSG) treatment given through the mother's diet causes behavioral deficits in rat offspring. *Int J Neurosci* 1984; 23(2):117-126.
52. Yu T, Zhao Y, Shi W, Ma R, Yu L. Effects of maternal oral administration of monosodium glutamate at a late stage of pregnancy on developing mouse fetal brain. *Brain Res* 1997; 747(2):195-206.
53. OLNEY JW, HO OL. Brain Damage in Infant Mice following Oral Intake of Glutamate, Aspartate or Cysteine. *Nature* 1970; 227(5258):609-611.
54. Olney JW. New insights and new issues in developmental neurotoxicology. *Neurotoxicology* 2002; 23(6):659-668.
55. Li H, Matheny M, Nicolson M, Tumer N, Scarpace PJ. Leptin gene expression increases with age independent of increasing adiposity in rats. *Diabetes* 1997; 46(12):2035-2039.
56. Souza Fd, Marchesini JB, Campos AC et al. Efeito da vagotomia troncular em ratos injetados na fase neonatal com glutamato monossédico: estudo biométrico. *Acta Cirurgica Brasileira* 2001; 16:32-45.
57. Kim YW, Choi DW, Park YH et al. Leptin-like effects of MTII are augmented in MSG-obese rats. *Regul Pept* 2005; 127(1-3):63-70.

58. Perello M, Gaillard RC, Chisari A, Spinedi E. Adrenal enucleation in MSG-damaged hyperleptinemic male rats transiently restores adrenal sensitivity to leptin. *Neuroendocrinology* 2003; 78(3):176-184.
59. Olney JW. Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science* 1969; 164(880):719-721.
60. Rodriguez-Sierra JF, Sridaran R, Blake CA. Monosodium glutamate disruption of behavioral and endocrine function in the female rat. *Neuroendocrinology* 1980; 31(3):228-235.
61. Bakke JL, Lawrence N, Bennett J, Robinson S, Bowers CY. Late endocrine effects of administering monosodium glutamate to neonatal rats. *Neuroendocrinology* 1978; 26(4):220-228.
62. Pizzi WJ, Barnhart JE, Fanslow DJ. Monosodium glutamate administration to the newborn reduces reproductive ability in female and male mice. *Science* 1977; 196(4288):452-454.
63. Lengvari I. Effect of perinatal monosodium glutamate treatment on endocrine functions of rats in maturity. *Acta Biol Acad Sci Hung* 1977; 28(1):133-141.