

Evaluación Semicuantitativa de los Microelementos del Esmalte en un Modelo de Obesidad inducido por Glutamato Monosódico en Ratas

Semi-quantitative Evaluation of Enamel Microelements in an Obesity Model Induced by Monosodium Glutamate in Rats

Ignacio Roa¹ & Mariano del Sol²

ROA, I. & DEL SOL, M. Evaluación semicuantitativa de los microelementos del esmalte en un modelo de obesidad inducido por glutamato monosódico en ratas. *Int. J. Morphol.*, 39(4):984-988, 2021.

RESUMEN: En la actualidad, existen múltiples modelos experimentales de obesidad, uno de ellos es la utilización de glutamato monosódico (GMS), un potenciador del sabor ampliamente utilizado en industria alimentaria. Este GMS ha sido relacionado con obesidad, diabetes, insulino resistencia, así como en alteraciones en múltiples órganos, tales como testículos, riñón e hígado, entre otros. Ha sido reportado el efecto del GMS en estructuras orales, tales como las glándulas salivales, alterando su morfología y función. La relación del efecto del GMS frente a tejidos dentarios no ha sido reportada, siendo esto relevante debido a la información que proporciona a disciplinas tales como arqueología científica, identificación forense, paleoecología y odontología. El objetivo del estudio fue observar la modificación de los elementos en la superficie dental, en un modelo de obesidad inducida por GMS, en ratas. Se utilizaron 12 ratas neonatas Sprague Dawley machos, divididas en dos grupos según exposición a GMS (Grupo Control y Grupo GMS 1: 4 mg/g peso de GMS, 5 dosis, mantenidas 16 semanas). Fue calculado el índice de masa corporal (IMC) e Índice de Lee, además de ser analizados el porcentaje de masa de los elementos C, O, Na, P, Ca, Fe y K en la superficie dental, mediante análisis semicuantitativo. Los resultados indican que GMS indujo obesidad en las ratas, así como alteraciones en los porcentajes de masa de los elementos en la superficie dental, evidenciándose disminución de Ca, P y O, además de aumentos en C y Fe. Según reportes previos, la obesidad inducida por GMS, causa alteraciones en secreción y composición salival, elemento íntimamente relacionado con la composición del esmalte, lo que vendría a explicar nuestros resultados. Entender la composición superficial del esmalte superficial podría ayudarnos a comprender de mejor manera la relación entre caries dentaria y obesidad.

PALABRAS CLAVE: Esmalte; Elementos; Obesidad; Glutamato monosódico; Caries.

INTRODUCCIÓN

La composición distintiva del esmalte dental, conformado principalmente por sustancias inorgánicas, lo hace una sustancia no vital, frágil e irreparable (Simmer & Hu, 2001). El Ca y el P, son los microelementos más importantes (Kudrjaeva, 2004), debido a su rol estructural al conformar el cristal de hidroxiapatita (Dorozhkin & Epple, 2002). Se distribuyen en un 39,83±0,14 % y 18,53 ±0,08 % respectivamente en la capa externa del esmalte, presentando niveles más bajos en las capas media e interna (Gorbunova, 2007).

En dientes sanos, el esmalte y la dentina son permeables al agua y los iones. Estos se transportan desde la superficie del diente a la pulpa y viceversa, por lo cual la barrera principal para dicha permeabilidad es entonces el

esmalte (Atkinson, 1947; Shellis & Dibdin, 2000). Algunos autores relatan la existencia de una relación positiva entre la permeabilidad del esmalte dental y el desarrollo de caries (Lucchese *et al.*, 2012; Narrenthran *et al.*, 2015); por lo que cualquier alteración de su composición, alterará su función protectora.

Durante la obesidad, diversas estructuras orales se ven afectadas, dentro de ellas las glándulas salivales, responsables de mantener el equilibrio biológico oral (Roa & del Sol, 2018, 2020), gracias a la función salival, la cual se ve afectada durante el proceso de obesidad (Modéer *et al.*, 2010). Estudios han informado que la caries dental se correlaciona positivamente con índice de masa corporal (IMC). Se ha visto que niños con sobrepeso son más sus-

¹ Unidad de Morfología, Departamento de Ciencias Básicas Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile.

² Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos (CEMyQ), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

ceptibles a caries que los normopesos (Gerdin *et al.*, 2008). Sin embargo, la correlación entre la caries dental y la obesidad sigue siendo controvertida. El objetivo del estudio fue evaluar el contenido de microelementos en la superficie del esmalte dental en un modelo experimental de obesidad.

MATERIAL Y MÉTODO

Animales y protocolos experimentales. Se utilizaron 12 ratas machos Sprague Dawley, neonatas (2 días de nacimiento), divididas en dos grupos: Grupo Control (n=6): Grupo no expuesto a GMS, expuestas a solución salina (cloruro de sodio al 0.9 % (p/v) en agua destilada) 8 ml/g vía subcutánea. Grupo GMS (n=6): expuestas a GMS subcutáneo, 4 mg/g peso dos dosis, 2° y 4° día y 2 mg/g peso, 6°, 8°, 10° día, (Baculikova *et al.*, 2008). Las ratas fueron alojadas durante 16 semanas en jaulas individuales, en el Bioterio del Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos (CEMyQ) de la Universidad de La Frontera., Chile y mantenidas a una temperatura de $22^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ y 50 %-70 % de humedad y un ciclo de luz/oscuridad de 12 h (08:00 h – 20:00 h/20:00 h – 08:00 h). Se les administró una dieta estándar de laboratorio (AIN-93M) y agua *ad libitum*. El proyecto de investigación fue aprobado por el Comité Ético Científico de la Universidad de La Frontera-Chile, N°051/2017.

El peso corporal de los animales fue medido dos veces por semana, durante todo el experimento en una balanza analítica (Radwag, WTB2000, Poland). Se midió el IMC y la obesidad fue evaluada mediante el índice de Lee, calculado por la raíz cúbica del peso corporal (g) dividido entre la longitud hocico-ano (LHA) (cm). Un valor igual o menor a 0,3 fue considerado como normal; mayor que 0,3; las ratas fueron clasificadas como obesas de acuerdo a de Campos *et al.* (2007).

Microanálisis elemental semicuantitativo de esmalte.

Para la determinación de los elementos salivales se realizó un Microanálisis elemental Semicuantitativo, EDX en un Microscopio Electrónico de Barrido (VP-SEM) (SU 3500 Hitachi, Japan) acoplado a Detector EDX (Energy Dispersive Microanalysis), (Quantax, Bruker, Berlin, Germany). Se depositaron 50 μl de saliva sobre cinta doble faz de carbono montada al stub, se secó a 30°C por 10 min (control cinta carbono). Se realizó microanálisis elemental semicuantitativo en las muestras, bajo los siguientes parámetros: Energía 15 KV, Distancia de trabajo (WD) 10 mm aprox., detector BSD-3D, Magnificación 500X Presión 6 Pa.

Análisis estadístico. Los datos fueron tabulados en el programa Microsoft® Excel Mac (versión 2011, CA, U.S.A.) y analizados con GraphPad Prism® (versión 5.0 San Diego, U.S.A.). Para determinar la distribución de los datos se utilizó el Test de Shapiro-Wilks. Según la normalidad de los datos obtenidos se usó t de Student o U de Mann-Whitney. Se consideró un valor $p < 0,05$ para la significancia.

RESULTADOS

La administración de GMS causó obesidad en las ratas tratadas durante 16 semanas continuas, al ser comparadas con el grupo control alimentadas con una dieta estándar. Las ratas correspondientes al grupo GMS, aumentaron su peso corporal en comparación con el grupo no intervenido. Desde el tercer mes el grupo GMS presentó un Índice de Lee de 0,4, resultados que fueron estadísticamente significativos ($p = < 0,0001$). Dichos cambios en el peso indican obesidad. Se observó un aumento en el IMC de las ratas en el grupo GMS en comparación con el grupo de control, resultados que no fueron estadísticamente significativos (Fig. 1).

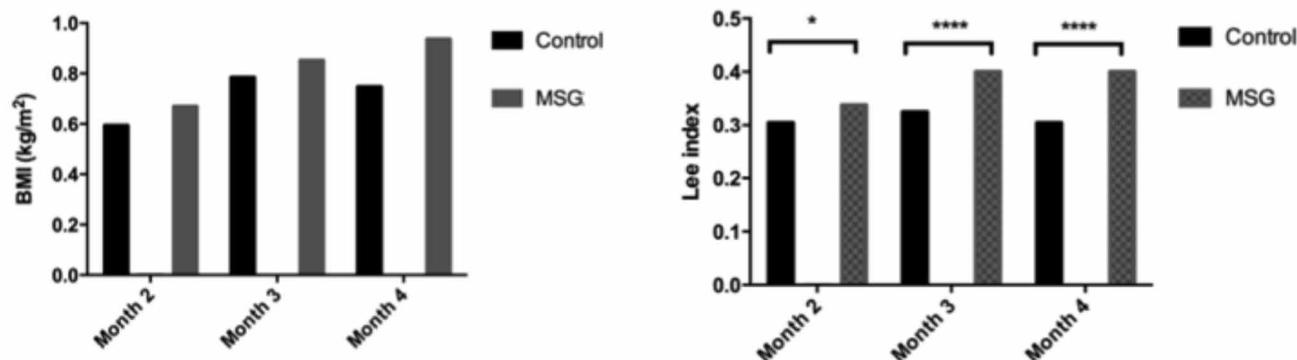


Fig. 1. Índice de Lee y IMC, mostrando el efecto del MSG en las ratas.

Luego del tiempo experimental, las ratas correspondientes al grupo GSM, presentaron aumentos en los porcentajes de masa de los elementos Na, C, O y Fe, al ser comparados con los animales del grupo control, donde sodio

y carbono, presentaron significancia estadística ($p=0,002$ y $p=0,0005$ respectivamente). Con respecto a los elementos P y Ca, donde solo los valores de fósforo fueron estadísticamente significativos ($p=0,0004$) (Fig. 2).

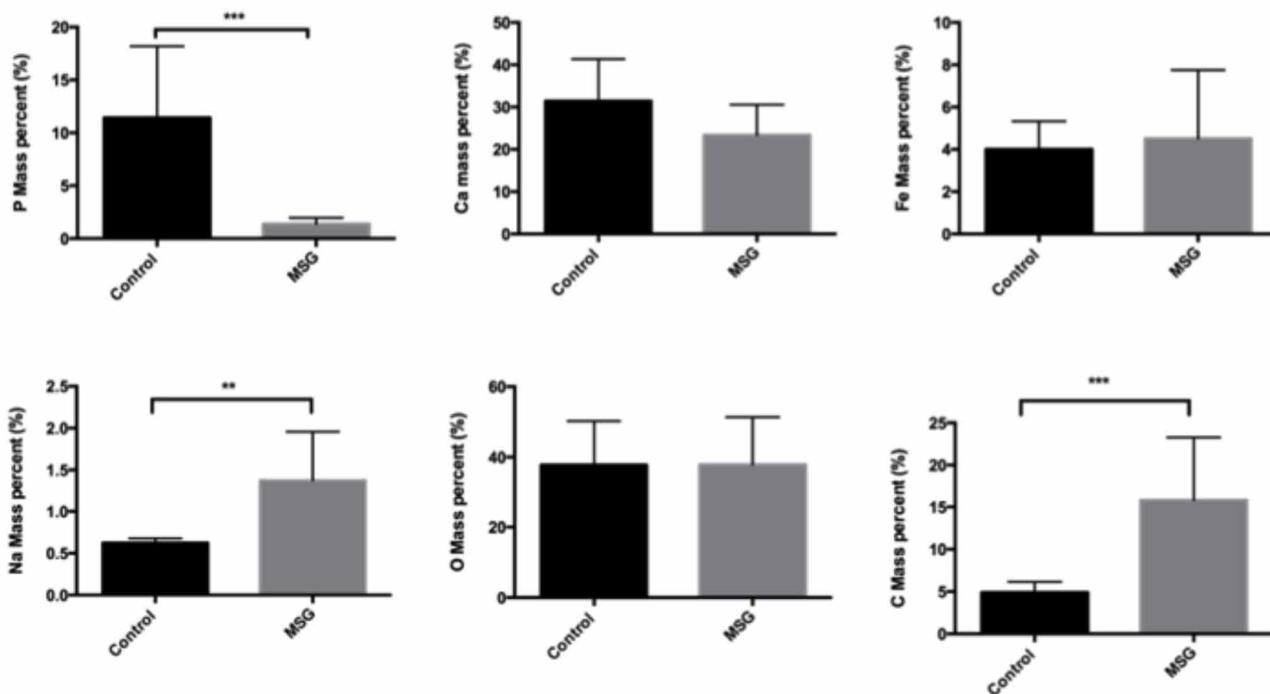


Fig. 2. Microanálisis semiquantitativo de elementos de ratas macho Sprague Dawley sometidas a MSG, mostrando los efectos de este último sobre el esmalte superficial.

DISCUSIÓN

La administración de GSM produjo alteraciones en el porcentaje de microelementos en la superficie del esmalte de las ratas del grupo experimental, quienes desarrollaron obesidad posterior a 16 semanas, al igual a lo reportado por otros autores, que indican una relación entre la administración de GSM y obesidad (He *et al.*, 2008, 2011).

Nuestros resultados indicaron existencia de alteraciones en los microelementos encontrados en la superficie dental, donde fosfato y calcio disminuyeron en el grupo experimental, resultados similares a los reportados por Atar *et al.* (2004), quienes, en ratas obesas y diabéticas, reportaron descensos de estos elementos al ser analizados con la metodología EDX. Además, se observó un menor porcentaje de masa de oxígeno, todos componentes importantes en la composición del cristal de hidroxiapatita (Vallet-Regí, 2014), unidad estructural del esmalte. En general, es importante considerar que la composición de la apatita biológica no es constante y depende de muchos

factores: el tipo de tejido, edad, salud y dieta del individuo, así como de factores ambientales, etc. (Pajor *et al.*, 2019), por tanto, alteraciones en su composición podrían afectar su estructura y resistencia a la caries. En relación a este punto, se ha observado una relación positiva, entre obesidad y caries dental (Willerhausen *et al.*, 2004, 2007; González Muñoz *et al.*, 2013; Yen & Hu, 2013). En dientes sanos, la pérdida de minerales se equilibra con los mecanismos de reparación de la saliva (Waszkiewicz *et al.*, 2011), de esta manera, si la saliva está presente en menor cantidad y calidad, podría contribuir al desarrollo de un proceso carioso, como se ha señalado en relación a la obesidad y sobrepeso (Modéer *et al.*; Gerdin *et al.*; Fadel *et al.*, 2014). Sin embargo, la relación existente entre caries y obesidad no es concluyente, como lo indicaron algunos autores (Prpic *et al.*, 2012, González Muñoz *et al.*).

Si bien nuestros resultados indican variaciones en calcio, fósforo y oxígeno, que podrían repercutir en la es-

estructura del cristal de hidroxiapatita, hay una presencia mayor de hierro en las ratas obesas. Estudios previos indican que el hierro podría disminuir la solubilidad del cristal de hidroxiapatita, ya que la densidad del hierro se correlaciona positivamente con la resistencia a los ácidos del esmalte externo (Okazaki *et al.*, 1985), pudiendo ser un factor protector frente a la degradación externa del esmalte, lugar donde se encontró hierro, siendo estos hallazgos similares a los reportados por Qamar *et al.* (2017).

CONCLUSIÓN

El aumento en la cantidad de Fe, registrado en ratas obesas y los descensos en las cantidades de P y Ca, nos indicaría un cierto ambiente de equilibrio entre los factores protectores (Fe) y de riesgo a la caries dental.

ROA, I. & DEL SOL, M. Semi-quantitative evaluation of enamel microelements in an obesity model induced by monosodium glutamate in rats. *Int. J. Morphol.*, 39(4):984-988, 2021.

SUMMARY: Monosodium glutamate (MSG) is a flavor enhancer widely used in the food industry. It has been associated with obesity, diabetes, insulin resistance, as well as alterations in multiple organs, such as testicles, kidney, liver, among others. While its effect on oral structures such as the salivary glands has been reported, the impact on dental tissues has not been described. Since this information is also relevant in fields such as forensic identification, palaeoecology and dentistry, the objective of the study was to observe alterations on the tooth surface in a model of obesity in rats induced by MSG. Twelve neonate male Sprague Dawley rats were used, divided into two groups according to MSG exposure (Control Group and MSG1 Group: 4 mg / g weight of MSG, 5 doses were maintained for 16 weeks. Body mass index (BMI) and Lee's index as well as mass percentage of elements C, O, Na, P, Ca, Fe and K on the tooth surface were evaluated by semi-quantitative analysis. In addition to increases in C and Fe, results indicate that MSG induced obesity and alterations in the percentages of mass on the tooth surface in rats, showing a decrease in Ca, P and O, According to previous reports, MSG induced obesity causes alterations in secretion and salivary composition, an aspect closely related to enamel composition, thus explaining our results. Enhanced knowledge of enamel surface composition may help improve our understanding of the relationship between dental caries and obesity.

KEY WORDS: Enamel; Elements; Obesity; Monosodium Glutamate; Caries.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atar, M.; Atar-Zwillenberg, D. R.; Verry, P. & Spornitz, U. M. Defective enamel ultrastructure in diabetic rodents. *Int. J. Paediatr. Dent.*, 14(4):301-7, 2004.
- Atkinson, H. F. An investigation into the permeability of human enamel using osmotic methods. *Br. Dent. J.*, 83(10):205-14, 1947.
- Baculikova, M.; Fiala, R.; Jezova, D.; Macho, L. & Zorad, S. Rats with monosodium glutamate-induced obesity and insulin resistance exhibit low expression of Galpha(i2) G-protein. *Gen Physiol. Biophys.*, 27(3):222-6, 2008.
- de Campos, K. E.; Sinzato, Y. K.; de Paula Pimenta, W.; Rudge, M. V. C. & Damasceno, D. C. Effect of maternal obesity on diabetes development in adult rat offspring. *Life Sci.*, 81(19-20):1473-8, 2007.
- Dorozhkin, S. V. & Epple, M. Biological and medical significance of calcium phosphates. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 41(17):3130-46, 2002.
- Fadel, H. T.; Pliaki, A.; Gronowitz, E.; Mårild, S.; Ramberg, P.; Dahlèn, G.; Yucel-Lindberg, T.; Heijl, L. & Birkhed, D. Clinical and biological indicators of dental caries and periodontal disease in adolescents with or without obesity. *Clin. Oral Investig.*, 18(2):359-68, 2014.
- Gerdin, E. W.; Angbratt, M.; Aronsson, K.; Eriksson, E. & Johansson, I. Dental caries and body mass index by socio-economic status in Swedish children. *Community Dent. Oral Epidemiol.*, 36(5):459-65, 2008.
- González Muñoz, M.; Adobes Martín, M. & González de Dios, J. Revisión sistemática sobre la caries en niños y adolescentes con obesidad y/o sobrepeso. *Nutr. Hosp.*, 28(5):1372-83, 2013.
- Gorbunova, I. L. Investigation of the apatite structure of tooth enamel with different levels of resistance to decay. *Univ. Dent.*, 1:96-7, 2007.
- He, K.; Du, S.; Xun, P.; Sharma, S.; Wang, H.; Zhai, F. & Popkin, B. Consumption of monosodium glutamate in relation to incidence of overweight in Chinese adults: China Health and Nutrition Survey (CHNS). *Am. J. Clin. Nutr.*, 93(6):1328-36, 2011.
- He, K.; Zhao, L.; Daviglus, M. L.; Dyer, A. R.; Van Horn, L.; Garside, D.; Zhu, L.; Guo, D.; Wu, Y.; Zhou, B.; *et al.* Association of monosodium glutamate intake with overweight in Chinese adults: the INTERMAP Study. *Obesity (Silver Spring)*, 16(8):1875-80, 2008.
- Kudrjaeva, J. E. *Influence of Fissures Sealing on Enamel Ionic Exchange. Materials of Interregional Scientific Conference for Young Scientists: New Technologies in Biology and Medicine.* Voronezh, Press Inform, 2004. pp.180-3.
- Lucchese, A.; Bertacci, A.; Chersoni, S. & Portelli, M. Primary enamel permeability: a SEM evaluation in vivo. *Eur. J. Paediatr. Dent.*, 13(3):231-5, 2012.
- Modéer, T.; Blomberg, C. C.; Wondimu, B.; Julihn, A. & Marcus, C. Association between obesity, flow rate of whole saliva, and dental caries in adolescents. *Obesity (Silver Spring)*, 18(12):2367-73, 2010.
- Narrenthran, J. S.; Muthu, M. S. & Renugalakshmi, A. In vivo scanning electron microscope assessment of enamel permeability in primary teeth with and without early childhood caries. *Caries Res.*, 49(3):209-15, 2015.
- Okazaki, M.; Takahashi, J. & Kimura, H. Iron uptake of hydroxyapatite. *J. Osaka Univ. Dent. Sch.*, 25:17-24, 1985.
- Pajor, K.; Pajchel, L. & Kolmas, J. Hydroxyapatite and fluorapatite in conservative dentistry and oral implantology-A review. *Materials (Basel)*, 12(17):2683, 2019.
- Qamar, Z.; Rahim, Z. B. H. A.; Chew, H. P. & Fatima, T. Influence of trace elements on dental enamel properties: A review. *J. Pak. Med. Assoc.*, 67(1):116-20, 2017.
- Roa, I. & del Sol, M. Monosodium glutamate alters the function and morphology of the parotid gland in Sprague Dawley rats. *Int. J. Morphol.*, 38(4):1112-9, 2020.

- Roa, I. & del Sol, M. Obesity, salivary glands and oral pathology. *Colomb. Med. (Cali)*, 49(4):280-7, 2018.
- Shellis, R. P. & Dibdin, G. H. *Enamel Microporosity and its Functional Implications*. In: Teaford, M. F, Smith, M. M. & Ferguson, M. W. J. (Eds.). *Development, Function and Evolution of Teeth*. Cambridge, Cambridge University Press, 2000. pp.242-51.
- Simmer, J. P. & Hu, J. C. Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *J. Dent. Educ.*, 65(9):896-905, 2001.
- Vallet-Regí, M. (Ed.) *Biomimetics*. In: Vallet-Regí, M. *Bioceramics with Clinical Applications*. Chichester, Wiley, 2014. pp.17-22.
- Waszkiewicz, N.; Zalewska, A.; Szulc, A.; Kepka, A.; Konarzewska, B.; Zalewska-Szajda, B.; Chojnowska, S.; Waszkiel, D. & Zwierz, K. The influence of alcohol on the oral cavity, salivary glands and saliva. *Pol. Merkur. Lekarski.*, 30(175):69-74, 2011.
- Willerhausen, B.; Blettner, M.; Kasaj, A. & Hohenfellner, K. Association between body mass index and dental health in 1,290 children of elementary schools in a German city. *Clin. Oral Investig.*, 11(3):195-200, 2007.
- Willerhausen, B.; Haas, G.; Krummenauer, F. & Hohenfellner, K. Relationship between high weight and caries frequency in German elementary school children. *Eur. J. Med. Res.*, 9(8):400-4, 2004.
- Yen, C. E. & Hu, S. W. Association between dental caries and obesity in preschool children. *Eur. J. Paediatr. Dent.*, 14(3):185-9, 2013.

Dirección para correspondencia:
Ignacio Roa Henríquez
Unidad de Morfología
Departamento de Ciencias Básicas Biomédicas
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad de Talca
Av. Lircay s/n, Talca
CHILE

E-mail: iroa@utalca.cl

Recibido : 05-05-2021
Aceptado: 25-05-2021