



Influence d'une supplémentation en monosodium glutamate sur la physiologie gastro-intestinale et le métabolisme chez le rat et l'Homme

Claire Boutry

► To cite this version:

Claire Boutry. Influence d'une supplémentation en monosodium glutamate sur la physiologie gastro-intestinale et le métabolisme chez le rat et l'Homme. Alimentation et Nutrition. AgroParisTech, 2010. Français. NNT : 2010AGPT0099 . pastel-00555993

HAL Id: pastel-00555993

<https://pastel.hal.science/pastel-00555993>

Submitted on 14 Jan 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Doctorat ParisTech

THÈSE

pour obtenir le grade de docteur délivré par

**L'Institut des Sciences et Industries
du Vivant et de l'Environnement**

(AgroParisTech)

Spécialité : Nutrition Humaine

présentée et soutenue publiquement par

Claire BOUTRY

le 17 décembre 2010

INFLUENCE D'UNE SUPPLEMENTATION EN MONOSODIUM GLUTAMATE SUR LA PHYSIOLOGIE GASTRO-INTESTINALE ET LE METABOLISME CHEZ LE RAT ET L'HOMME

Directeur de thèse : **François BLACHIER**

Co-encadrement de la thèse : **Cécile BOS**

Jury

Mme Nathalie LE FLOC'H, CR, UMR1079 INRA/Agrocampus Ouest
M. Jean-Pascal DE BANDT, Pr., Lab. de Nutrition EA2498, Université Paris Descartes
M. Dominique DARMAUN, Pr., UMR1280 INRA/Université de Nantes
M. Philippe SCHMIDELY, Pr., UMR791 INRA/AgroParisTech
M. Daniel TOME, Pr., UMR914 PNCA INRA/AgroParisTech
M. François BLACHIER, DR, UMR914 PNCA INRA/AgroParisTech.

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur
Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Ce travail de thèse a été effectué au sein de l'UMR 914 (unité mixte de recherche) INRA/AgroParisTech Physiologie de la Nutrition et du Comportement Alimentaire.

Les expérimentations sur volontaires ont été réalisées dans le centre de recherche de nutrition humaine d'Ile de France à l'hôpital Avicennes de Bobigny.

Tout d'abord, je tiens à remercier Nathalie Le Floc'h et Jean-Pascal De Bandt de m'avoir fait l'honneur d'être rapporteurs de cette thèse ainsi que Dominique Darmaun et Philippe Schmidely pour leur participation en tant qu'examinateurs.

Je remercie particulièrement Daniel Tomé pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire à la fois pour mes stages de master et pour ces trois années de thèse. Il a de plus été d'une grande aide pour la recherche de mon post-doc.

J'aimerais exprimer ma profonde reconnaissance à Cécile Bos et François Blachier pour leur encadrement, leur confiance et leur soutien. Merci à Cécile pour son aide précieuse au cours de la mise en place des études, de leur réalisation et de leur interprétation, mais aussi pour sa disponibilité malgré les kilomètres qui nous ont séparées à la fin de ma thèse. Merci à François d'avoir été disponible, de m'avoir conseillée et fait partager ses connaissances mais aussi pour son soutien pendant ces trois années. Je tiens ici à vous exprimer toute mon amitié.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui m'ont aidée pour la réalisation des études. Un merci particulier à Hideki Matsumoto de la société japonaise Ajinomoto qui a été présent pendant 6 mois sur Paris et a été d'une aide précieuse pour les analyses. Merci à Catherine Luengo-Guyonnot, la « super woman » de la spectro qui chouchoute les spectromètres de masse. Elle a été présente dès qu'il y avait un problème et m'a formée pour leur utilisation. Merci à Véronique Mathé, qui m'a été d'une grande aide pour l'utilisation du luminex et tout ça dans la joie et la bonne humeur. Merci à Patrick Even pour m'avoir initiée à la calorimétrie. Merci à Dalila Azzout-Marniche et Catherine Chaumontet pour leur formation à la biologie moléculaire. Merci à Robert Benamouzig, Georges Airinei et Marie-Claude Amar pour les manip chez l'Homme. Merci à Angélique Foucault-Simonin pour son travail à l'animalerie et son aide précieuse pour les abattages. Merci à Julien Piedcoq, toujours disponible pour rendre service.

Je remercie aussi Khalid Dabari, Nour Altamimi et Anna-Louise Le Déaut que j'ai encadrés pendant leur stage et qui m'ont aidée pour les expérimentations et les analyses.

Je remercie également tout le personnel du laboratoire qui a su se montrer accueillant et a su faire régner une ambiance agréable et conviviale. Merci en particulier à Claire Gaudichon pour sa sympathie et les discussions constructives que nous avons pu avoir. Un grand merci à Gilles Fromentin pour sa confiance, sa présence et la relecture de mon manuscrit de thèse. Les discussions autour du vin vont me manquer. Merci à Mireille Andriamihaja pour sa présence, sa sympathie, son soutien et surtout pour l'organisation des repas de fin d'année et des barbecues !!! Je penserai aux délicieux samos quand je serai à Houston. Enfin je n'oublie pas tous les thésards et post-doc avec qui j'ai passé d'excellents moments. Je remercie tout particulièrement Juliane, Claire F et Aurélie car la vie au labo et à Paris aurait été nettement moins cool, mais aussi pour m'avoir accueillie à la fin de la thèse quand je venais sur Paris. Merci à Anne-Sophie qui a été ma « co-chef » des thésards et à qui j'ai passé le flambeau. J'espère que tu t'occuperas bien de tous les petits nouveaux. Merci à Nathalie, Arnaud, Astrid, Fanny, Nad, Najoua, Laure, Audrey, Montserrat et tous les autres pour votre présence et votre aide.

Pour finir, je tiens à exprimer mes sincères remerciements à toute ma famille et mes amis. Merci à mes parents toujours présents et qui m'ont soutenu pendant ces trois ans. Merci à ma sœur Lise, toujours là pour moi et pour la relecture profonde de ma thèse, malgré quelques fois des incompréhensions. Merci à mes amis Chloé, Max, Damien, Sophie, Bastien, Seb, Maelle, David, Mag, Flo, Bébert, Christophe, Carole, Maud, ... Je sais que je suis partie tôt de Lyon et depuis 8 ans maintenant, mais un grand merci pour votre présence et tous les bons souvenirs que j'ai avec vous. J'espère que nous en aurons encore beaucoup à l'avenir. Enfin, un grand merci à Alex.

RESUME

Le glutamate de sodium (MSG) est un exhausteur de goût abondamment utilisé dans le monde entier pour son goût unique appelé « umami ». Au vu des données bibliographiques qui suggèrent que, le L-glutamate en tant qu'acide aminé libre peut représenter un signal dans plusieurs fonctions physiologiques de par la présence de récepteurs au glutamate au niveau périphérique ; nous avons étudié les effets d'une supplémentation en MSG sur la physiologie gastro-intestinale, les sécrétions pancréatiques et le métabolisme dans le modèle expérimental rat et chez des volontaires sains.

Chez le rat, une supplémentation en MSG pendant 15 jours à hauteur de 2 g pour 100 g d'aliment provoquait une diminution de l'activité glutaminase intestinale et une augmentation de la concentration circulante de glutamine ainsi qu'une augmentation transitoire de l'insulinémie. Par contre, aucun effet sur la vidange gastrique et le transit gastro-intestinal n'a été observé malgré une accumulation de glutamate pendant 5 h dans l'estomac et pendant 1 h dans l'intestin grêle après le repas.

Chez le volontaire sain, une supplémentation en MSG à hauteur de 2 g par jour pendant 7 jours entraînait une augmentation de l'aire antrale de l'estomac pendant 2 h après le repas par rapport à une dose iso-sodée de NaCl. Cette phase précoce postprandiale était associée à une augmentation des concentrations circulantes d'acide glutamique, de leucine, d'isoleucine, de cystéine, de tyrosine, d'ornithine et de sérine. Cependant, l'augmentation de l'aire antrale de l'estomac n'était apparemment pas associée à un effet sur la vidange gastrique puisque le MSG était sans effet sur le devenir de l'azote alimentaire. La réponse hormonale (insuline, GLP-1 et ghréline) n'est pas non plus modifiée. Enfin, les sensations de faim et de satiété mesurées par échelles analogiques visuelles n'étaient pas non plus influencées par la consommation de MSG. L'effet du MSG sur les sécrétions gastriques en tant que déterminant de l'augmentation de la distension antrale sans modification de la vidange gastrique est discuté ainsi qu'un éventuel effet d'épargne du glutamate sur le catabolisme de certains acides aminés par l'intestin.

Ces résultats ont permis de mettre en évidence des effets d'une supplémentation en MSG sur des paramètres métaboliques et physiologiques sans effet délétère mesuré. D'autres études sont nécessaires afin de mieux comprendre les mécanismes d'action du MSG.

Mots clés : monosodium glutamate, vidange gastrique, métabolisme des acides aminés, métabolisme protéique, rats, Hommes.

ABSTRACT

Monosodium glutamate (MSG) is used worldwide as a flavour enhancer for its unique taste called “umami”. As reported in literature, glutamate receptors are present in peripheral tissues and so L-glutamate as a free amino acid could exert some physiologic functions. We have assessed the effects of MSG supplementation on gastrointestinal physiology, pancreatic secretion and metabolism in the rat model and in healthy humans.

In rats; 2%-MSG supplementation during 15 days decreased glutaminase activity in intestinal mucosa and increased circulating glutamine concentration and transiently insulinemia. But no effect of MSG was observed on gastric emptying and gastrointestinal transit despite glutamate accumulation in stomach during 5h and in small intestine during 1h after the meal.

In healthy humans, 2g-MSG supplementation during 7 days increased the antral area of stomach 2h after the meal compared to NaCl. It was associated with an increase of circulating glutamate, leucine, isoleucine, cysteine, tyrosine, ornithine and serine concentrations. However, this increase of stomach antral area was not associated with an effect on gastric emptying; as no effect of MSG was recorded on dietary nitrogen incorporation. Hormonal response (insulin, ghrelin, GLP-1) was also not modified. Finally hunger and satiation state measured by visual analogic scales were not influenced by MSG supplementation. MSG effect on gastric secretion as determinant for antral distension increase without effect on gastric emptying is discussed as well as possible sparing effect of glutamate on some amino acid catabolism by intestine.

These results have allowed to highlight some metabolic and physiological effects of MSG supplementation without measured deleterious effect. Additional studies are needed in order to better understand MSG mechanism of action.

Key words: monosodium glutamate, gastric emptying, amino acid metabolism, protein metabolism, rats, Humans

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	1
RESUME.....	3
ABSTRACT.....	4
TABLE DES MATIERES.....	5
LISTE DES FIGURES.....	7
LISTE DES TABLEAUX.....	8
LISTE DES ABBREVIATIONS	9
I. INTRODUCTION GENERALE.....	10
II. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.....	14
1. LE L-GLUTAMATE, LE MONOSODIUM GLUTAMATE ET LE GOUT UMAMI.....	15
1.1. Présentation du L-glutamate et du monosodium glutamate	15
1.1.1. <i>Le L-glutamate</i>	15
1.1.2. <i>Le monosodium glutamate</i>	15
1.2. Découverte du goût umami	16
1.3. Apport en L-glutamate et MSG dans les aliments.....	17
1.4. Production et consommation.....	18
2. RECEPTEURS AU L-GLUTAMATE ET EFFETS PHYSIOLOGIQUES	20
2.1. Les récepteurs au L-glutamate et au goût umami.....	20
2.1.1. <i>Les récepteurs ionotropiques au L-glutamate</i>	20
2.1.2. <i>Les récepteurs métabotropiques au L-glutamate</i>	20
2.1.3. <i>Les récepteurs au L-glutamate dans les tissus périphériques</i>	21
2.1.4. <i>Les récepteurs au goût umami</i>	23
2.2. Effets au niveau du système nerveux central.....	25
2.3. Effets au niveau du tractus gastro-intestinal.....	26
2.3.1. <i>Effet du glutamate</i>	26
2.3.2. <i>Effet de la vidange gastrique et/ou du volume gastrique sur les phénomènes de rassasiement et de satiété</i>	28
2.4. Effets au niveau du pancréas endocrine et exocrine.....	29
3. METABOLISME DU L-GLUTAMATE	31
3.1. Métabolisme et fonction du L-glutamate dans l'intestin	31
3.1.1. <i>Le L-glutamate, un substrat oxydatif dans les cellules épithéliales de l'intestin</i>	32
3.1.2. <i>Le L-glutamate, un précurseur d'autres acides aminés et de la synthèse protéique dans la muqueuse intestinale</i>	36
3.1.3. <i>Le L-glutamate, un précurseur de glutathion et d'acétylglutamate dans la muqueuse intestinale</i>	37
3.1.4. <i>Métabolisme du L-glutamate et de la L-glutamine dans les cellules épithéliales du côlon</i>	38

3.2.	Métabolisme et fonction du L-glutamate dans le foie	40
3.2.1.	<i>Rôle central du L-glutamate dans le métabolisme hépatique</i>	40
3.2.2.	<i>Zonation hépatique et métabolisme du L-glutamate</i>	42
3.3.	Métabolisme et fonction du L-glutamate dans le muscle	44
3.4.	Concentration circulante en acide glutamique et en glutamine	45
3.4.1.	<i>Concentration en condition normale</i>	45
3.4.2.	<i>Concentration lors d'une supplémentation en MSG</i>	46
4.	EFFETS BENEFIQUES ET DELETERES DU MSG A DOSE NUTRITIONNELLE ET SUPRA-NUTRITIONNELLE	48
4.1.	Le syndrome du restaurant chinois	48
4.2.	Le MSG et ses effets sur la prise alimentaire et l'obésité	50
4.3.	Toxicité du L-glutamate	52
4.4.	Apport journalier acceptable en MSG	53
4.5.	Sensibilité individuelle au MSG	54
III.	TRAVAUX PERSONNELS	56
1.	HYPOTHESES ET OBJECTIFS DU TRAVAIL	57
2.	ARTICLES	58
2.1.	Article 1 : Effets d'une supplémentation en monosodium glutamate sur le métabolisme de la glutamine chez le rat adulte	58
2.1.1.	<i>Résumé de l'étude</i>	58
2.1.2.	<i>Article 1</i>	59
2.2.	Articles 2 : Le monosodium glutamate augmente la distension antrale et les acides aminés plasmatiques après un repas standard chez l'Homme	72
2.2.1.	<i>Résumé de l'étude</i>	72
2.2.2.	<i>Article 2</i>	73
3.	DISCUSSION	84
3.1.	Effets d'une supplémentation en MSG sur la physiologie gastro-intestinale chez le rat et l'Homme	84
3.2.	Effets du MSG sur le métabolisme des acides aminés chez le rat et l'Homme	86
3.3.	Autres effets du MSG chez le rat et l'Homme	90
3.4.	Aspects méthodologiques	91
3.4.1.	<i>Notions de doses nutritionnelles et extra-nutritionnelles en MSG</i>	91
3.4.2.	<i>Mesure de la vidange gastrique</i>	92
IV.	CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	95
	ANNEXE	99
	ARTICLES, COMMUNICATIONS ET POSTERS	108
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	110

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Formule chimique de l'acide glutamique et du monosodium glutamate.....	15
<u>Figure 2</u> : Concentrations en acides aminés libres dans une soupe japonaise « konbu dashi » (A) et dans le lait maternel (B).....	18
<u>Figure 3</u> : Production de monosodium glutamate dans le Monde.....	19
<u>Figure 4</u> : Répartition de l'apport en glutamate en Europe et à Taiwan	19
<u>Figure 5</u> : Effet du monosodium glutamate sur la vidange gastrique après un repas hyperprotéique.....	27
<u>Figure 6</u> : Le glutamate stimule la sécrétion d'insuline dans les cellules β pancréatiques chez le rat.....	30
<u>Figure 7</u> : Schéma du métabolisme du L-glutamate dans les cellules épithéliales absorbantes de l'intestin grêle.....	34
<u>Figure 8</u> : Voies métaboliques du glutamate, de la glutamine et des acides aminés associés..	36
<u>Figure 9</u> : Schéma de la conversion de L-glutamate en glutathion et N-acétylglutamate dans les cellules épithéliales absorbatives du gros intestin	37
<u>Figure 10</u> : Schéma de la production d'énergie dans les cellules épithéliales absorbatives du gros intestin à partir du L-glutamate plasmatique et des métabolites bactériens luminaux	38
<u>Figure 11</u> : Voies du métabolisme de la glutamine et du glutamate dans les cellules périportales et périveineuses du foie	41
<u>Figure 12</u> : Zonation hépatique de la glutaminase et de la glutamine synthétase	42
<u>Figure 13</u> : Représentation schématique de l'interaction des acides aminés avec le cycle de Krebs ou tricarboxylique.....	44
<u>Figure 14</u> : Variation de sensibilité au goût du L-glutamate chez l'Homme	54
<u>Figure 15</u> : Anatomie de l'estomac	72

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : Concentration en glutamate dans différentes protéines animales et végétales exprimée en g pour 100 g de protéines	17
<u>Tableau 2</u> : Concentration en glutamate naturel dans différents aliments exprimée en mg pour 100 g d'aliment.....	18
<u>Tableau 3</u> : Les différents récepteurs au glutamate.....	20
<u>Tableau 4</u> : Expression et fonctions des récepteurs au glutamate dans les tissus périphériques	21
<u>Tableau 5</u> : Etudes suivant les effets du glutamate sur l'extraction splanchnique	34
<u>Tableau 6</u> : Liste des enzymes hépatiques du métabolisme du glutamate	40
<u>Tableau 7</u> : Flux intraveineux de glutamate et glutamine	45
<u>Tableau 8</u> : Quantité de glutamate libre en mg dans les principaux organes d'un adulte normal (70kg)	45
<u>Tableau 9</u> : Doses utilisées au cours des études <i>in vivo</i> sur les effets du glutamate ou du MSG	91

LISTE DES ABBREVIATIONS

AA : acide aminé
ADN : acide désoxyribonucléique
AMPA : α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid
ASL : argininosuccinate lyase
ASS : argininosuccinate synthétase
ATP : adénosine tri-phosphate
ARN : acide ribonucléique
ARNm : ARN messenger
CPS-I : carbamoyl phosphate synthétase I
DL50 : dose létale 50
EAAC : excitatory amino acid carrier
EA-IRMS : analyseur élémentaire couplée à un spectromètre de masse à ratio isotopique
FASEB : federation of american societies for experimental biology
FAO/WHO : food and agriculture organization of the United Nations / world health organization
FDA : food and drug administration
GDH : glutamate déshydrogénase
GLAST-1 : L-glutamate/aspartate transporter 1
GLP-1 : glucagon like peptide-1
GLT-1 : L-glutamate transporter 1
GluR : récepteur au glutamate
GMP : guanosine 5'-monophosphate
iGluR : récepteur ionotrope au glutamate
IMC : indice de masse corporelle
IMP : inosine 5'-monophosphate
JECFA : journal of expert committee on food additives
Ka : kainate
LPS : lipopolysaccharide
mGluR : récepteur metabotrope au glutamate
MSG : glutamate de sodium ou monosodium glutamate
NaCl : chlorure de sodium
NAG : N-acétylglutamate
NMDA : N-méthyl-D-aspartate
NMDAR : récepteur NMDA
NOS : nitric oxyde synthase
OAT : ornithine aminotransférase
OTC : ornithine transcarbamoylase
PC : poids corporel
PCR : polymerase chain reaction ou amplification en chaîne par polymérase
P5CDH : P5C déshydrogénase
RT-PCR : reverse transcriptase-PCR
SCF : scientific committee for food of the commission of the european communities
SNC : système nerveux central
SRC : syndrome du restaurant chinois

I. INTRODUCTION GENERALE

Les protéines alimentaires fournissent de l'azote et des acides aminés (AA). Parmi les 20 AA constituant des protéines alimentaires, 9 sont considérés comme nutritionnellement indispensables chez l'homme : le tryptophane, la valine, la leucine, l'isoleucine, la lysine, la thréonine, la méthionine, la phénylalanine, et l'histidine (Boutry, Bos et al. 2008). Le caractère indispensable de ces AA a été initialement défini sur la base de « l'impossibilité de l'organisme animal à les synthétiser à partir de composés normalement disponibles à une vitesse correspondant aux besoins ».

Les AA ont plusieurs fonctions métaboliques mais leur fonction quantitativement principale est leur rôle de précurseur pour la synthèse des protéines corporelles. Les AA sont aussi des précurseurs pour la biosynthèse de composés divers qui jouent des rôles physiologiques variés tels le glutathion, la créatine, la carnithine, l'hème de l'hémoglobine qui sont spécifiquement synthétisés par l'organisme à partir d'un ou plusieurs AA. Certains AA (glutamine, aspartate et glycine) sont également les précurseurs azotés et carbonés utilisés pour la synthèse des ribo- et désoxyribonucléotides, précurseurs pour la synthèse d'ARN et d'ADN. De plus, des AA comme l'arginine et la glutamine sont des précurseurs d'AA non présents dans les protéines comme l'ornithine et la citrulline qui jouent des rôles importants dans le métabolisme détoxifiant (cycle de l'urée par exemple) et dans le métabolisme inter-organe. Enfin, certains AA comme la glutamine ou le glutamate sont des précurseurs d'intermédiaires du cycle de Krebs et sont des substrats oxydatifs principaux ou secondaires de nombreux phénotypes cellulaires qui les utilisent comme source d'énergie.

Par ailleurs et plus récemment, les AA en tant que tels ou via la production intracellulaire de métabolites pourraient avoir des « fonctions signal » associées à des modifications métaboliques et physiologiques. Par exemple, l'arginine via l'activité catalytique d'une des isoformes de la « nitric oxide synthase » (NOS) est un précurseur dans les cellules endothéliales du monoxyde d'azote, entité radicalaire impliqué dans la régulation de la pression artérielle. On doit également considérer les fonctions de neurotransmetteur de certains AA tels le glutamate ou le tryptophane (précurseur de sérotonine) ou d'amines biogènes (comme par exemple l'histidine précurseur d'histamine). Enfin, un AA comme l'arginine peut à la fois exercer des fonctions de régulateur métabolique indirect en activant la première étape de l'élimination de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ dans le cycle de l'urée hépatique ou en exerçant des fonctions sécrétagogues par exemple vis-à-vis des cellules β des îlots de Langerhans pancréatiques. Le rôle de la leucine en tant que molécule signal de la

protéosynthèse a également fait l'objet de nombreuses études (AFSSA 2008). De fait, l'AA le plus étudié à la fois *in vitro* (Dardevet, Sornet et al. 2000) et *in vivo* (Anthony, Anthony et al. 2000) est la leucine qui a un effet direct sur l'activation de la synthèse protéique principalement au niveau du muscle squelettique. Elle augmente également la synthèse protéique dans le tissu adipeux (Lynch, Patson et al. 2002) et la synthèse de protéines particulières dans le foie (Anthony, Anthony et al. 2001).

Le glutamate, dont nous avons vu qu'il jouait un rôle de neurotransmetteur, est un AA strictement non indispensable car il peut être synthétisé à partir de plusieurs précurseurs. C'est un composé présent dans tous les organismes vivants (Mallick 2007). De par la présence de récepteurs au L-glutamate sur de nombreux phénotypes cellulaires, celui-ci est impliqué dans de nombreuses fonctions physiologiques. Tout d'abord, le L-glutamate est le principal neurotransmetteur excitateur du système nerveux central (SNC) des vertébrés (Moult 2009). De plus, cet AA est le plus important substrat oxydatif pour les cellules épithéliales intestinales (Blachier, Boutry et al. 2009). Le glutamate est aussi un précurseur de nombreux autres métabolites qui jouent un rôle important dans les fonctions physiologiques comme le glutathion (défense contre le stress oxydant), le N-acétylglutamate (régulateur métabolique activateur du cycle de l'urée) et l' α -cétooglutarate (intermédiaire du cycle de Krebs) (Uchiyama, Mori et al. 1981; Reeds, Burrin et al. 1997; Blachier, Boutry et al. 2009). De plus il joue un rôle significatif dans la biosynthèse d'AA notamment au niveau des cellules épithéliales intestinales (proline, ornithine, citrulline, aspartate, alanine) (Windmueller and Spaeth 1975).

Le MSG, le sel de l'acide glutamique, est un exhausteur de goût utilisé dans le monde entier pour son goût unique appelé « umami ». Au vu des quelques données bibliographiques qui suggèrent que le L-glutamate, en tant qu'AA libre, peut représenter un signal dans de nombreuses fonctions physiologiques, il est important d'évaluer le rapport bénéfices/risques d'une supplémentation en MSG. Le but de cette thèse a donc été d'étudier les effets d'une supplémentation en MSG sur la physiologie et les fonctions gastro-intestinales, les sécrétions pancréatiques et le métabolisme sur le modèle expérimental rat et chez des volontaires sains.

Dans la suite de ce mémoire, l'étude bibliographique est divisée en quatre parties. Une description du contexte général de la thèse présente le glutamate, le glutamate de sodium et notamment le goût « umami » qu'il confère, l'apport alimentaire en glutamate, la production

et la consommation de glutamate de sodium. La deuxième partie des données bibliographiques décrit les différents récepteurs au glutamate qui pourraient être à la base des effets physiologiques, notamment au niveau du système nerveux central, du tractus gastro-intestinal et du pancréas. La description du métabolisme du glutamate est présentée notamment au niveau de l'aire splanchnique. Enfin, une description des effets bénéfiques et délétères du glutamate est donnée sur la base des données disponibles dans la bibliographie.

II. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

1. LE L-GLUTAMATE, LE MONOSODIUM GLUTAMATE ET LE GOUT UMAMI

1.1. Présentation du L-glutamate et du monosodium glutamate

1.1.1. Le L-glutamate

L'acide glutamique a été découvert en 1866 par Karl Rithausen, un scientifique allemand, dans le gluten de blé (Dillon 1991). Le L-glutamate, la forme anionique de l'acide glutamique, est l'un des 20 acides aminés (AA) naturels. Sa chaîne latérale contient un résidu carboxyle, ce qui en fait un AA acide, dicarboxylique et polaire. Sa formule chimique est la suivante : $C_5H_9NO_4$ (figure 1A) et sa masse molaire est de 147,13 g/mol. Il existe deux stéréoisomères L et D, seule la forme L existant dans les protéines. Il est présent dans de nombreux aliments à la fois sous forme libre et sous forme liée dans les protéines ou les peptides. Le glutamate est un additif alimentaire autorisé par l'union européenne sous forme acide (E620) d'après la directive 95/2/CE du parlement européen et du conseil du 20 février 1995 concernant les additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants. Le L-glutamate est utilisé pour augmenter la flaveur des aliments depuis des milliers d'années.

1.1.2. Le monosodium glutamate

Il existe différents sels de l'acide glutamique : le glutamate monosodique ou monosodium glutamate (MSG), le glutamate monopotassique, le diglutamate de calcium, le glutamate d'ammonium et le diglutamate de magnésium. Ce sont tous des additifs alimentaires autorisés par l'union européenne : E621 à E625 respectivement. Cependant, ils ne sont pas autorisés dans le lait, les émulsions de graisse et d'huile, les pâtes, les produits à base de cacao ou de chocolat et les jus de fruits (Beyreuther, Biesalski et al. 2007).

Le MSG est le plus largement utilisé par les industries agroalimentaires en tant qu'exhausteur de goût dans les plats préparés (soupes, assaisonnements, pizzas, ...) mais aussi dans les plats « faits maison » dans le monde entier (Bellisle 1999). On le retrouve en grande quantité dans la cuisine asiatique. Sa formule chimique est la suivante $C_5H_8NNaO_4$ (figure 1B) et sa masse molaire est de 169,13 g/mol.

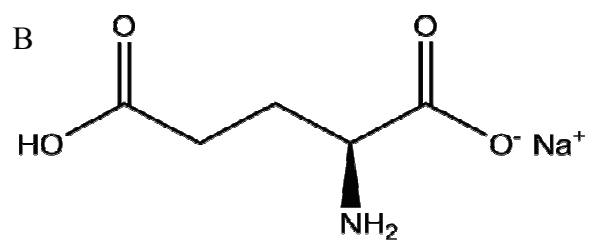
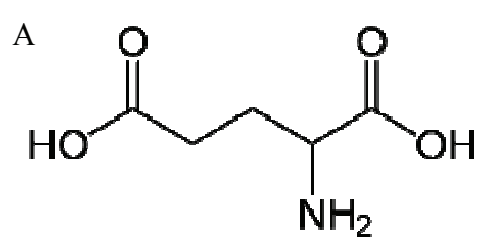


Figure 1 : Formule chimique de l'acide glutamique et du monosodium glutamate

1.2.Découverte du goût umami

La nourriture et/ou les ingrédients riches en AA libres ont été utilisés en cuisine depuis des siècles et dans toutes les cultures pour augmenter les qualités sensorielles des aliments. Il y a 100 ans, Kikunae Ikeda, un professeur de l'université impériale de Tokyo, a isolé le L-glutamate d'une algue nommée « konbu » et a identifié un goût unique différent des goûts salé, sucré, aigre et amer (Lindemann, Ogiwara et al. 2002). Ikeda a nommé ce goût « umami », dérivé de l'adjectif japonais « umai » qui signifie délicieux (Ikeda 2002). Il breveta son invention avec l'aide de Saburosuke Suzuki II de la compagnie Suzuki Seiyakusho Co. qui deviendra Ajinomoto Co. Le goût umami est maintenant reconnu comme le cinquième goût. De nombreuses recherches sur ce cinquième goût ont été effectuées à partir des années 1980. Dans la nature, les composés qui ont le goût umami sont les suivants : le MSG et le monopotassium glutamate ; l'inosine 5'-monophosphate (IMP) et la guanosine 5'-monophosphate (GMP) ; certains autres AA comme le L-aspartate et certains peptides. Les réponses gustatives à ces molécules ont été étudiées chez l'Homme et l'animal. Chez l'Homme, une synergie existe entre le MSG et l'IMP ou la GMP (Kurihara and Kashiwayanagi 2000). Par exemple 0,5mmol/L de GMP seul ou 1,5mmol/L de MSG seul ne sont pas à l'origine du goût umami mais la consommation d'une mixture de GMP et de MSG à ces concentrations permet l'identification d'un fort goût umami. Cette synergie n'est pas observée dans certains modèles expérimentaux tels les rats ou les chats.

Les aliments non cuisinés ainsi que les préparations culinaires contiennent divers types et combinaisons de composés à l'origine du goût umami. Ces variations de combinaisons de composés reconnus globalement comme associés au goût umami est à l'origine de différences subtiles dans la perception du goût umami par les différents individus. De nouvelles composantes continuent à être découvertes qui sont potentiellement des stimuli pour la perception du goût umami ou qui améliorent le goût umami de composés connus (Chaudhari, Pereira et al. 2009). Quand les aliments sont supplémentés en composés umami, des interactions avec les composants de l'aliment sont possibles. Le L-glutamate contribue donc largement aux caractéristiques gustatives des aliments qui en contiennent (Kurihara and Kashiwayanagi 2000). Par exemple, le goût de la chair de crabe peut être reproduit à partir d'un mélange de glycine, d'alanine, d'arginine, de MSG, d'IMP et de sel selon des ratios particuliers. Quand un des constituants umami est éliminé, le goût « chair de crabe » n'est plus perçu.

Le message sensoriel correspondant au goût umami a été abondamment étudié et décrit. En 1987, Kurihara a décrit les mécanismes fondamentaux par lesquels les stimuli gustatifs sont perçus. Un stimulus chimique est d'abord reconnu par des récepteurs membranaires au niveau des papilles puis le message chimique est transmis au cerveau pour être reconnu. Le MSG ajouté à de nombreux aliments (mais pas tous) augmente la palatabilité de ceux-ci (Beauchamp 2009). Cette augmentation de la palatabilité est particulièrement évidente dans certains aliments liquides telles les soupes. De manière intéressante, une étude de Steiner *et al.* a été faite chez des nouveau-nés qui ingéraient du MSG seul ou avec de la soupe puis il a été évalué leurs expressions faciales en réponse à une exposition orale brève. Le MSG seul n'a pas provoqué d'expressions faciales positives (par rapport à de l'eau) alors que l'ingestion de MSG avec de la soupe entraînait des expressions faciales positives (par rapport à de la soupe sans MSG).

1.3. Apport en L-glutamate et MSG dans les aliments

Il existe différentes sources de L-glutamate dans l'alimentation : soit sous forme liée aux protéines, soit sous forme libre (dans les aliments ou ajouté en tant qu'exhausteur de goût généralement sous forme de MSG).

En tant qu'AA, il est le composant de nombreuses protéines : en moyenne les protéines végétales sont plus riches en L-glutamate que les protéines animales (Eisenbrand 2006). Le tableau 1 montre le contenu en L-glutamate de différentes protéines animales et végétales (Dillon 1991; Bellisle 1999). Toutes les protéines ne sont pas présentées car il est relativement délicat de déterminer leurs concentrations en L-glutamate. En effet, la détermination de la composition en AA est effectuée après hydrolyse acide et les résidus de glutamine sont décomposés en L-glutamate pendant ce processus (Beyreuther, Biesalski et al. 2007). C'est pourquoi souvent les concentrations données dans les études sont la somme de L-glutamate et L-glutamine et un ratio L-glutamate/L-glutamine a été estimé être égal à 44/56 (Dangin, Boirie et al. 2001).

Le L-glutamate est présent naturellement et abondamment dans de nombreux aliments (tableau 2) incluant les légumes (tomates, champignons, pommes de terre, carottes, choux, soja et thé vert), les produits de la mer (poissons, algues, huîtres, crevettes, crabes, oursins, palourdes et coquilles saint jacques), la viande (bœuf, porc et poulet) et le fromage (Kurihara and Kashiwayanagi 2000). Le tableau 2 présente les concentrations en L-glutamate dans différents aliments (Dillon 1991; Bellisle 1999; Eisenbrand 2006). On peut remarquer que le

Tableau 1 : Concentration en glutamate dans différentes protéines animales et végétales exprimée en g pour 100 g de protéines (Dillon 1991; Bellisle 1999)

	L-glutamate (g/100g)
<i>Protéines animales</i>	
Albumine (sérum humain)	17,0
Ovalbumine	16,5
Fibrinogène (sérum humain)	14,5
γ -globuline (sérum humain)	11,8
Albumine (blanc d'œuf)	16,5
α -caséine (lait)	22,5
β -lactoglobuline (lait)	20,0
Actine (muscle)	14,8
Myosine (muscle)	21,0
Insuline	18,6
Pepsine	11,9
Kératine (cheveux humains)	14,4
Kératine (laine)	11,9
Collagène (tendon)	11,3
<i>Protéines végétales</i>	
Gliadine (blé)	45,7
Zeine (maïs)	26,9
Edestine (lin)	20,7
Hordenine (orge)	38,4
Globuline (noix de coco)	21,8
Arachine (cacahuète)	20,8
Globuline (soja)	23,6
Glycinine (blé)	20,1
Lupine (lupin)	27,2
Gluténine (blé)	24,7

L-glutamate libre est présent en forte quantité dans les pois, le blé, les tomates, les pommes de terre et le parmesan. La soupe japonaise « konbu dashi », préparée à partir d'algue konbu donnant le goût umami, contient 20 mg/100 mL de L-glutamate (figure 2A) avec une forte présence d'aspartate (substance umami reconnue avec une plus faible intensité que le glutamate) par rapport aux autres AA (Kurihara 2009). Si on compare cette soupe à du lait maternel (figure 2B), on remarque que celui-ci a une teneur similaire en L-glutamate (Mallick 2007). Les Hommes sont donc familiarisés au goût du L-glutamate et de l'umami au début de leur vie et ceci à des concentrations retrouvées dans de nombreux aliments.

Du fait de sa fonction d'exhausteur de goût, le L-glutamate libre, et non le L-glutamate lié aux protéines, est ajouté dans les aliments en tant que sel de glutamate, généralement sous forme de MSG, ou sous la forme de protéines végétales hydrolysées. Celui-ci ne doit pas être ajouté au-delà de 10 g/kg selon la directive de l'Union Européenne. De nombreux plats industriels comme les assaisonnements, les sauces ou les pizzas préparés avec du L-glutamate peuvent contenir des quantités considérables de L-glutamate libre ajouté ou d'origine naturelle. Les protéines végétales hydrolysées contiennent approximativement 8000 mg de glutamate pour 100 g (Eisenbrand 2006). Les assaisonnements pour les viandes avec ces protéines hydrolysées en contiennent approximativement 50 mg/g. Les assaisonnements et sauces ainsi que les sauces au soja en apportent 20 à 1900 mg/100 g. Dans les restaurants asiatiques, un plat peut contenir entre 10 et 1500 mg de glutamate pour 100 g d'aliments. Jinap et Hajeb ont récemment publié les concentrations en L-glutamate libre de nombreux aliments (Jinap and Hajeb 2010).

1.4. Production et consommation

Dans le passé, le MSG était produit par hydrolyse de protéines végétales (le gluten de blé par exemple). Mais cette méthode de production a été vite remplacée par une méthode plus avantageuse en termes de prix et de production de masse. Actuellement, le MSG est donc obtenu par fermentation microbienne à partir de glucides (Liu and Zhou 2010). Cela débute par une fermentation de sucre de canne, de betterave ou de manioc en présence de bactéries ou de levures (*Micrococcus glutamicus*, *Corynebacterium glutamicus*,...) qui ont la capacité de convertir les glucides en AA, comme l'acide glutamique. Celui-ci peut ensuite être séparé par filtration, purifié et converti en MSG par neutralisation. Après purifications additionnelles, cristallisation et séchage, une poudre blanche de MSG est formée. Une autre méthode de production est la synthèse organique.

Tableau 2 : Concentration en glutamate naturel dans différents aliments exprimée en mg pour 100 g d'aliment (Dillon 1991; Bellisle 1999; Eisenbrand 2006)

	Glutamate lié (mg/100g)	Glutamate libre (mg/100g)
<i>Poissons</i>		
Morue	2101	9
Saumon	2216	20 ou 36
<i>Légumes</i>		
Légumes secs	3700	ND
Pois	5583	200
Blé	1765	150
Epinards	289	39
Betteraves	256	30
Tomates	238	140
Carottes	218	33
Pommes de terre	280	180
Oignons	208	18
Poivre	120	32
<i>Produits à base de lait</i>		
Lait de vache	819	2
Lait maternel	229	22
Fromage à pâte dure	5600	ND
Fromage à pâte molle	8000	ND
Parmesan	9847	1200
<i>Viandes-Œufs</i>		
Œufs	1583	23
Poulet	3309	44
Canard	3636	69
Bœuf	2846 ou 3500	33
Porc	2325	23

ND : non déterminé

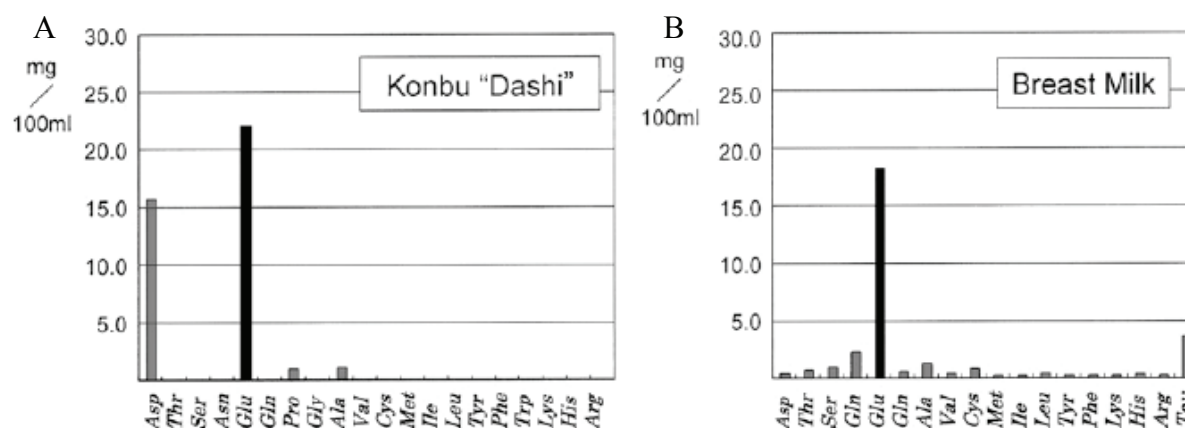


Figure 2 : Concentrations en acides aminés libres dans une soupe japonaise « konbu dashi » (A) et dans le lait maternel (B) (Kurihara 2009)

La production de monosodium glutamate a été multipliée par 8 entre 1976 et 2009 (figure 3). En effet, celle-ci est passée de 0,3 millions de tonnes en 1976 à 2,2 millions de tonnes en 2009. La production en 2003 a été de plus de 1,5 millions de tonnes dont 80% ont été consommés en Asie. En Europe, on évalue à 95 000 tonnes la consommation.

Il est important de différencier la consommation de L-glutamate libre (apporté par le MSG et présent dans les aliments) de celle de L-glutamate total (libre + lié aux protéines). En premier lieu, nous présentons les données de consommation. En 1983, Maga *et al.* ont estimé la consommation moyenne dans différents pays : à Taiwan 3 g/j, en Corée 2,3 g/j, en Italie 0,4 g/j et aux Etats Unis 0,35 g/j (Maga 1983). Bien sûr, ces valeurs ont eu tendance à augmenter depuis. La consommation de MSG est très élevée dans les régions situées à l'est (4g/j au 97,5^{ème} percentile en Corée) par rapport aux pays occidentaux (moins de 1 g/j) (Bellisle 1999). En effet, la proportion de L-glutamate ajouté en tant qu'exhausteur de goût est de 25% de l'apport total en glutamate à Taiwan alors qu'elle est seulement de 4% en Europe (figure 4). D'après les estimations faites au Royaume Uni, la consommation moyenne est de 0,6 g de MSG par jour, avec une consommation extrême (au delà du 97,5^{ème} percentile) de 2,3 g MSG/j. Aux Etats Unis, elle est de 0,55 g/j. Une estimation de la consommation de glutamate libre a aussi été faite, mais varie considérablement en fonction des aliments ingérés. Dans les pays européens, la consommation moyenne de L-glutamate libre est estimée entre 0,3 et 0,6 g/j, c'est-à-dire 5 à 10 mg/kgPC/j pour un poids corporel (PC) de 60 kg (Eisenbrand 2006). La consommation dans les pays asiatiques est estimée entre 1,2 et 1,7 g de L-glutamate libre par jour avec une consommation aux alentours de 4 g/j au 97,5^{ème} percentile (Beyreuther, Biesalski et al. 2007). Enfin, en comparaison, la consommation totale de L-glutamate avec une alimentation normale est estimée entre 10 et 20 g/j avec approximativement 1 g apporté par le L-glutamate libre. Aux Etats Unis, la consommation moyenne totale est de 15 à 16 g/j et la plus haute consommation (chez les hommes de 31 à 50 ans, 99^{ème} percentile) est de 33 à 34 g/j. D'après ces données, il existe de large variation de consommation de L-glutamate libre ou total en fonction des individus et de la zone géographique.

Du fait d'une large consommation de MSG notamment dans certains pays, il est important de recenser les effets physiologiques et métaboliques de ce composé en termes de bénéfices/risques. Une partie des effets du glutamate est présumée être arbitrée via la fixation de cet AA à ses récepteurs. C'est pourquoi les récepteurs au L-glutamate ont largement été étudiés.

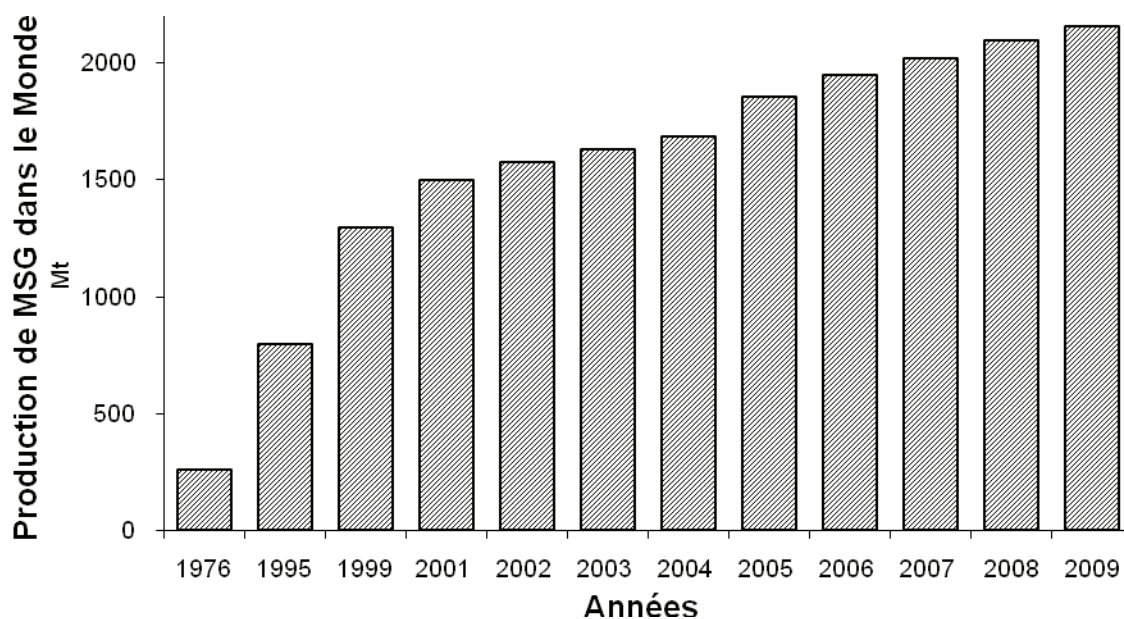


Figure 3 : Production de monosodium glutamate dans le Monde

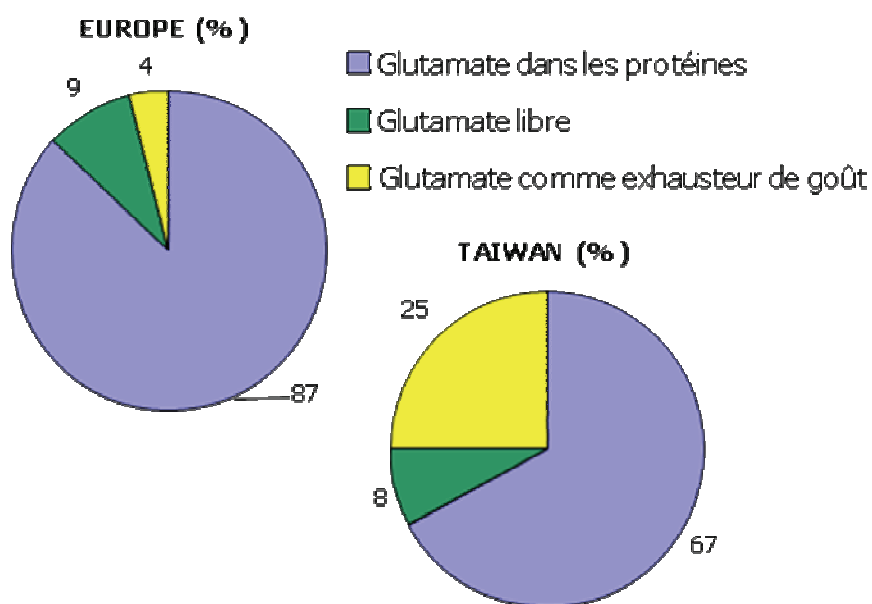


Figure 4 : Répartition de l'apport en glutamate en Europe et à Taiwan

2. RECEPTEURS AU L-GLUTAMATE ET EFFETS PHYSIOLOGIQUES

2.1. Les récepteurs au L-glutamate et au goût umami

Il existe deux classes de récepteurs au L-glutamate (GluR) : ionotropiques (canaux ioniques régulés par un ligand) et métabotropiques (récepteurs couplés à une protéine G) (tableau 3) (Dingledine and Conn 2000).

2.1.1. Les récepteurs ionotropiques au L-glutamate

Les récepteurs ionotropiques (iGluR) contiennent des canaux ioniques régulés par un ligand et sont connus pour gérer les transmissions synaptiques rapides. La famille des iGluR est classée en trois groupes majeurs en fonction de leur similarité de séquence, leurs propriétés électro-physiologiques et leur affinité pour différents agonistes : α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA), N-methyl-D-aspartate (NMDA) et kainate (Ka) (Dingledine and Conn 2000). Ces récepteurs sont au nombre de 15 et chaque sous-groupe varie en fonction des propriétés biophysiques, électro-physiologiques et pharmacologiques des récepteurs, incluant la sélection ionique des canaux au sodium (Na^+), potassium (K^+) et calcium (Ca^{2+}). Les technologies recombinantes ont identifié différentes familles de gènes codant pour les iGluR : la famille AMPA est composée de GluR1-4 (ou GluRA-D), la famille Ka inclut GluR5-7 et Ka1-2 et enfin la famille NMDA comporte NMDAR1, NMDAR2A-D et NMDAR3. NMDAR1 est le récepteur au glutamate le plus finement régulé par rapport aux autres récepteurs (NMDAR2A-D) (Gill and Pulido 2001). Les iGluR agissent comme récepteurs post-synaptiques pour arbitrer une grande partie des neurotransmissions excitatrices au niveau du cerveau. Les récepteurs kainate GluR5 sont largement exprimés dans les neurones sensoriels primaires qui détectent les sensations de douleur et, récemment il a été montré qu'un antagoniste à GluR5 pouvait avoir un effet analgésique.

2.1.2. Les récepteurs métabotropiques au L-glutamate

Contrairement aux iGluR, les récepteurs métabotropiques au L-glutamate (mGluR) ne sont pas des canaux ioniques régulés par un ligand mais sont couplés à divers systèmes effecteurs à travers des protéines liées avec la guanosine triphosphate (protéines G). Ils sont classifiés en deux catégories : excitateurs et inhibiteurs (Young, Page et al. 2007) et sont

Tableau 3 : Les différents récepteurs au glutamate (GluR)

Classes	Sous type	Famille de gènes
Ionotropiques (iGluR)	NMDA	NMDAR1 NMDAR2A NMDAR2B NMDAR2C NMDAR2D NMDAR3
	AMPA	GluR1 GluR2 GluR3 GluR4
	Ka	GluR5 GluR6 GluR7 Ka1 Ka2
Métabotropiques (mGluR)	Groupe I	mGluR1 mGluR5
	Groupe II	mGluR2 mGluR3
	Groupe III	mGluR4 mGluR6 mGluR7 mGluR8

Abbreviations : NMDA : N-methyl-D-aspartate, AMPA : α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid et Ka : kainate

largement retrouvés dans le cerveau où ils jouent un rôle neuromodulateur. Au milieu des années 80, l'existence de GluR couplé à un système de second messenger via la protéine G a été clairement montrée. A partir de 1995, 8 sous-récepteurs distincts (Pin and Duvoisin 1995; Conn and Pin 1997) ont été identifiés (mGluR1 à mGluR8) et classés en trois groupes majeurs en fonction de leur homologie de séquences, de leurs caractéristiques pharmacologiques et de leur couplage au second messenger. Les récepteurs du groupe I se composent de mGluR1 et mGluR5 et sont couplés à l'activation de la phospholipase C et à l'hydrolyse des phosphoinositides membranaires. Ce sont des récepteurs excitateurs. Les mGluR groupe II, incluant mGluR2 et mGluR3, et le groupe III, regroupant mGluR4, mGluR6, mGluR7 et mGluR8, sont couplés négativement à l'adénylyl cyclase dans les systèmes d'expression et ce sont des récepteurs inhibiteurs. Des agonistes et des antagonistes à ces récepteurs ont été développés car ils pourraient être utilisés pour le traitement de certaines maladies psychiatriques et neurologiques incluant l'épilepsie, la maladie de Parkinson, certains phénomènes addictifs et certaines douleurs chroniques.

Les mGluR ont des caractéristiques qui les distinguent des iGluR. La distribution des mGluR est plus diverse et hétérogène que celle des iGluR. Différentes sous-classes sont cependant localisées de manière relativement spécifique dans certaines zones anatomiques et cellulaires. Par exemple, mGluR2 et 3 sont retrouvés en haute densité dans le cortex cérébral alors que mGluR4 est présent en haute densité dans l'hypothalamus et mGluR6 est exclusivement retrouvé dans la rétine (Gill and Pulido 2001).

2.1.3. Les récepteurs au L-glutamate dans les tissus périphériques

Les GluR ont été largement étudiés dans le système nerveux central (SNC) et relativement peu de choses ont été établies quant à leur présence et leurs rôles dans les tissus périphériques. En effet, les iGluR et mGluR ne sont pas exprimés exclusivement dans le SNC. Le tableau 4 résume la distribution des GluR dans les tissus périphériques déterminés en utilisant différentes techniques : la RT-PCR, la PCR, le « northern blot », le « western blot », l'immuno-histochimie et l'hybridation *in situ*. Ces tissus incluent notamment le tractus gastro-intestinal (Nijima 1991), le pancréas et le foie.

Il a été montré que des GluR étaient présents dans le tractus gastro-intestinal et notamment dans l'estomac, le duodénum et le côlon descendant. mGluR1 est localisé dans la partie glandulaire de l'estomac, la membrane apicale des cellules principales de l'estomac et probablement dans les cellules pariétales (San Gabriel, Maekawa et al. 2007). Nijima *et al.*

Tableau 4 : Expression et fonctions des récepteurs au glutamate dans les tissus périphériques

Organe	Type de tissu /cellule	iGluR			mGluR	Fonctions proposées
		NMDA	AMPA	Ka		
Gastrointestinal	Estomac, intestin grêle, jéjunum, iléon	+	+	?	+	Sécrétions acides, la digestion, la motilité et le péristaltisme
Pancréas	Glandes pituitaires, pinéales, adrénales	+	+	+	?	Sécrétions endocrines et exocrines
Rein	Appareil juxta-glomérulaire, tubules proximaux	+	+	?	+	Protection cellulaire
Foie	Hépatocytes primaires	?	?	?	+	Hypoxie

ont montré la présence de GluR dans le tractus gastro-intestinal (Niiijima 1991) et la zone hépatoportale (Niiijima 2000). De plus, ces récepteurs ont aussi été identifiés dans le plexus myentérique de l'intestin grêle (Sinsky and Donnerer 1998) ou le plexus myentérique et sous muqueux du jéjunum et de l'iléon (mGluR2/3) (Larzabal, Losada et al. 1999). Enfin, Moroni *et al.* ont montré la présence de récepteur NMDA dans le plexus myentérique de porc (Moroni, Luzzi et al. 1986).

Les GluR sont aussi présents dans les tissus endocriniens, comme le pancréas (Bertrand, Gross et al. 1993). La distribution différentielle des sous-groupes de GluR dans le pancréas a été largement décrite (Inagaki, Kuromi et al. 1995; Weaver, Yao et al. 1996). Liu *et al.* ont montré que GluR1 et GluR4 sont largement retrouvés dans les cellules β pancréatiques sécrétant de l'insuline, tandis que GluR2/3 sont préférentiellement localisés dans les autres cellules endocrines non-sécrétrices d'insuline (Liu, Tay et al. 1997). Il apparaît, de plus, que les cellules, sécrétant ou non de l'insuline, expriment différents sous-groupes de récepteurs AMPA, qui interviennent dans la sécrétion hormonale (Bertrand, Gross et al. 1993; Bertrand, Puech et al. 1995). Weaver *et al.* ont montré que les récepteurs AMPA étaient localisés dans les cellules α , β et PP et sont généralement absents des cellules γ ; tandis que les récepteurs Ka sont exprimés dans les cellules α et γ et ne sont pas retrouvés dans les cellules β et PP. Gonoï *et al.* ont trouvé des iGluR dans une lignée de cellules β pancréatiques (Gonoï, Mizuno et al. 1994).

Dans le rein, la large distribution des NMDAR1 et la présence de mGluR2/3 et GluR2/3 dans l'appareil juxtaglomérulaire et les tubules proximaux suggèrent que ces récepteurs pourraient être impliqués dans les mouvements d'électrolytes et d'eau (Gill, Mueller et al. 2000). Les mGluR sont aussi présents dans le foie : Sureda *et al.* ont montré l'existence de mGluR5 dans les hépatocytes en culture primaire (Sureda, Copani et al. 1997). Il a été montré qu'en bloquant ces récepteurs, on observait une diminution de la mort cellulaire (Storto, de Grazia et al. 2000) suggérant une modulation par le glutamate des processus apoptotiques. Des récepteurs au glutamate ont été caractérisés dans d'autres tissus et cellules : dans les ostéoblastes (cellules responsables de la formation osseuse), dans les ostéoclastes (cellules responsables de la résorption osseuse), le cœur, la peau, le thymus, et dans la rate (Chenu, Serre et al. 1998; Patton, Genever et al. 1998; Gill and Pulido 2001; Skerry and Genever 2001; Hinoi, Takarada et al. 2004). De par la présence de GluR dans les tissus périphériques, notamment au niveau gastro-intestinal et pancréatique, il est plausible que cet AA puisse exercer des effets physiologiques au niveau de ces tissus.

2.1.4. Les récepteurs au goût umami

Les récepteurs umami varient en fonction des espèces. Des mesures biochimiques et biophysiques ont montré, chez les poissons, que le L-glutamate et d'autres AA étaient détectés par des récepteurs ionotropiques (Brand, Teeter et al. 1991). Chez les mammifères, la détection du goût umami semble être essentiellement faite par des récepteurs couplés à une protéine G (Chaudhari, Landin et al. 2000; Li, Staszewski et al. 2002; Nelson, Chandrashekar et al. 2002; Toyono, Seta et al. 2002; Toyono, Seta et al. 2003; San Gabriel, Maekawa et al. 2007; Toyono, Kataoka et al. 2007; San Gabriel, Maekawa et al. 2009).

Certains AA ont un goût sucré ou délicieux (umami) qui peut être détecté par des récepteurs au niveau de la langue : T1Rs et T2Rs, deux familles de récepteurs couplés à une protéine G (Nelson, Chandrashekar et al. 2002). Les T2Rs sont une famille d'environ trente récepteurs spécifiques du goût et sont responsables de la détection du goût amer. Les T1Rs sont une petite famille de 3 récepteurs (Li 2009) exprimés dans les cellules du goût de la langue et de l'épithélium du palais (Zhao, Zhang et al. 2003). Les T1Rs s'associent pour générer au moins deux récepteurs hétéromériques : T1R1 et T1R3 qui, chez les rongeurs, reconnaissent plusieurs AA (Nelson, Chandrashekar et al. 2002). De manière intéressante, T1R2 et T1R3 peuvent s'associer pour détecter le goût sucré. Contrairement aux récepteurs T1R1+3 des rongeurs, les récepteurs T1R1+3 chez l'Homme sont plus sensibles au L-glutamate et au L-aspartate qu'à d'autres AA (Li, Staszewski et al. 2002). Cette constatation a permis de proposer que T1R1+3 est le récepteur à l'umami chez les mammifères, il a donc été le plus étudié (Kinnamon and Vandenbeuch 2009). Cet hétérodimère a été cloné chez la souris et l'Homme et a été fonctionnellement exprimé dans des cellules hétérologues. De plus, des souris knockout T1R1+3 ont été générées et celles-ci ne percevaient plus le goût umami (Zhao, Zhang et al. 2003). Dans une autre étude, le knockout de T1R3 abolit seulement la potentialisation de la détection du goût umami induit par les nucléotides avec un effet modeste sur la réponse au L-glutamate (Damak, Rong et al. 2003). Plusieurs études ont examiné plus récemment les réponses au goût sur ces souris confirmant que le goût umami nécessite très probablement de multiples récepteurs (Delay, Hernandez et al. 2006; Maruyama, Pereira et al. 2006). Les récepteurs T1R1+3 ont d'abord été découverts dans la cavité orale mais sont aussi localisés dans la membrane apicale des entérocytes et dans les cellules de Paneth (situées au fond des cryptes) chez le rat (Mace, Affleck et al. 2007; Mace, Lister et al. 2009). Bezençon *et al.* ont montré l'expression de T1R1, T1R2 et T1R3 dans

l'estomac, l'intestin grêle et le colon chez la souris et l'Homme (Bezencon, le Coudre et al. 2007).

En 1996, Chaudhari *et al.* ont découvert un récepteur métabotrope au L-glutamate (mGluR4a), identique au mGluR4 dans le SNC, ce récepteur étant exprimé dans les papilles gustatives de la langue chez le rat (Chaudhari, Yang et al. 1996). Plus récemment, ils ont cloné un sous-type de mGluR4 qu'ils ont appelé « taste-mGluR4 » (mGluR4-goût) à partir des papilles de la langue de rat pour le distinguer du récepteur neuronal au L-glutamate nommé « brain-mGluR4 » (mGluR4-cerveau) (Chaudhari, Landin et al. 2000; Toyono, Seta et al. 2002; Chaudhari, Pereira et al. 2009). De plus Toyono *et al.* ont montré par RT-PCR et hybridation *in situ* que les ARN messagers (ARNm) de mGluR1 α et mGluR1 β sont exprimés dans les papilles de la langue (Toyono, Seta et al. 2003). San Gabriel *et al.* ont cloné un mGluR1 α à partir de papilles de la langue (San Gabriel, Uneyama et al. 2005) et celui-ci avait une structure distincte de celle retrouvée dans le cerveau. La différence entre mGluR4 et mGluR1 est que le premier est un récepteur inhibiteur alors que le second est un récepteur excitateur. Grâce à l'utilisation d'antagonistes aux récepteurs mGluR1 et mGluR4 chez des souris C57BL, une inhibition de la réponse au stimulus umami a été observée dans ces conditions (Yasuo, Kusahara et al. 2008; Yasumatsu, Horio et al. 2009). Ces résultats indiquent donc chez la souris que mGluR1+4 sont impliqués dans la détection du goût umami. Chez l'Homme, des études psychophysiques ont montré que des agonistes à mGluR1+4, appliqués sur la langue, évoquaient la perception du goût umami (Kurihara and Kashiwayanagi 2000). Enfin Toyono *et al.* ont montré, en 2007, la coexpression de mGluR2/3 dans une sous-population des cellules du goût qui pourrait jouer un rôle dans la perception du L-glutamate (Toyono, Kataoka et al. 2007).

En résumé, de nombreux récepteurs ont été découverts au niveau de la langue mais leur rôle dans la transduction du goût umami requiert que le goût soit modifié quand le récepteur est génétiquement enlevé (Kinnamon 2009). Au regard des différentes études, le seul récepteur au glutamate clairement impliqué dans la perception du goût umami est le récepteur T1R1+3. D'autres études suggèrent que d'autres récepteurs sont nécessaires pour la reconnaissance du goût umami. De ce point de vue, les récepteurs métabotropiques sont de bons candidats mais d'autres travaux sont requis afin de confirmer ce point (San Gabriel, Maekawa et al. 2009).

De par la présence de récepteurs au L-glutamate dans de nombreux tissus et cellules, cet AA est susceptible d'intervenir dans plusieurs fonctions physiologiques ailleurs qu'au niveau

du SNC. Mon travail de thèse s'est axé plus particulièrement sur les effets physiologiques et métaboliques du MSG sur le tractus gastro-intestinal et les sécrétions pancréatiques. Dans le paragraphe suivant, les effets du glutamate au niveau du SNC sont brièvement récapitulés.

2.2.Effets au niveau du système nerveux central

Le L-glutamate est l'AA libre le plus abondant dans le cerveau (Hawkins 2009). Le premier argument indiquant que le L-glutamate servait de neurotransmetteur dans le système nerveux central (SNC) est venue à la fin des années 1950 et au début des années 1960 quand le L-glutamate et d'autres AA acides excitaient une large variété de neurones centraux (Conn 2003). De nombreuses recherches ont ensuite confirmé que le L-glutamate était un important neurotransmetteur excitateur du SNC des vertébrés (Moult 2009). A la fin des années 1970 et au début des années 1980, plusieurs études ont montré que le L-glutamate pouvait aussi avoir un effet neuromodulateur via l'activation de récepteurs couplés à une protéine G. Les fonctions qui sont dépendantes du L-glutamate dans le SNC, incluent le développement synaptique, les phénomènes de mémorisation et d'apprentissage en lien avec la présence en grande quantité de GluR au niveau de l'hippocampe. De plus le dysfonctionnement des GluR est impliqué dans certaines maladies dégénératives neuronales comme la maladie d'Alzheimer et la maladie d'Huntington (Skerry and Genever 2001).

Lorsqu'on s'intéresse au L-glutamate produit de manière endogène, si les concentrations dans les cellules gliales sont excessives, le L-glutamate est converti en glutamine. Dans le cas contraire (concentration faible), il y a formation de L-glutamate à partir de glutamine. Si le L-glutamate extracellulaire excède une concentration seuil, il peut en résulter un dommage dit excitotoxique (altération voire destruction neuronale). Une concentration élevée chronique en L-glutamate endogène a été proposée comme pouvant être liée à l'étiologie de certaines maladies neurodégénératives progressives comme la maladie d'Alzheimer (Platt 2007).

La situation décrite ci-dessus se réfère au L-glutamate d'origine endogène. Le L-glutamate, ingéré (libre ou lié) avec les aliments (exogène) ou celui libéré des protéines endogènes au cours de la digestion, est en grande partie absorbé par l'intestin par un système de transporteurs actifs spécifiques puis métabolisé dans les cellules épithéliales intestinales absorbantes. Quand une grande quantité (par rapport aux doses habituellement consommées) de L-glutamate libre est consommée, les concentrations dans la veine porte peuvent augmenter de manière modeste résultant en une augmentation du métabolisme du L-glutamate

dans le foie et une augmentation mesurable de la libération de glucose, lactate, glutamine et d'autres AA dans la circulation systémique (Skerry and Genever 2001). Cependant, grâce à de hautes capacités métaboliques de la muqueuse intestinale et du foie vis-à-vis du glutamate, les concentrations plasmatiques de L-glutamate restent relativement stables en situation postprandiale. Il reste cependant possible que le SNC puisse, dans des situations de consommation de très fortes quantités de MSG, faire face à une augmentation transitoire des quantités circulantes de glutamate (Fernstrom 1994). Il a été montré, chez le jeune singe, qu'une injection sous-cutanée (donc échappant au catabolisme intestinal) d'une large dose de MSG provoque des lésions cérébrales (Olney and Sharpe 1969). Cependant, Reynolds *et al.* n'ont pas observé les mêmes effets (Reynolds, Lemkey-Johnston et al. 1971) dans une situation expérimentale différente. En effet, l'ingestion de MSG par sonde intra-gastrique, chez des primates nouveau-nés, n'a pas entraîné de lésions hypothalamiques. Chez les animaux nouveau-nés, l'ingestion d'une forte dose extra-nutritionnelle de MSG (500 mg/kg) entraîne des lésions hypothalamiques (Olney 1971; Soares, Schoffen et al. 2006). Ces doses supra-nutritionnelles de MSG administrées souvent dans des conditions non physiologiques provoquent donc des lésions au niveau du SNC.

2.3.Effets au niveau du tractus gastro-intestinal

2.3.1. Effet du glutamate

Dans le tractus gastro-intestinal, différents sites d'expression et/ou de fonction des GluR ont été identifiés qui pourraient être reliés à des effets sur la physiologie gastro-intestinale. Il a été montré que le récepteur mGluR1 pourrait être impliqué de manière directe ou indirecte dans la digestion des protéines durant la phase gastrique, lors de la présence de L-glutamate libre dans les aliments (San Gabriel, Maekawa et al. 2007). Depuis quelques années, des études se sont intéressées aux effets du MSG sur les sécrétions gastriques. Les études de Tsai, sur estomacs isolés de rat, ont montré que le L-glutamate semble être impliqué dans la régulation des sécrétions acides de l'estomac (Tsai, Tsai et al. 1994; Tsai, Huang et al. 1999) via des récepteurs ionotropiques non NMDA. Ces études ont montré que l'aspartate était plus spécifique que le L-glutamate dans la régulation des sécrétions acides car le L-glutamate est un agoniste de tous les types de GluR alors que l'aspartate est un agoniste fort des NMDAR. En 2009, une étude a montré qu'une perfusion de 100 mM de MSG stimulait les sécrétions gastriques chez le chien (Zolotarev, Khropychева et al. 2009).

Young *et al.* ont montré que mGluR5 jouait un rôle prédominant à la fin de la phase afférente vagale gastroesophagienne, mais un rôle mineur dans les voies vagales gastriques centrales (Young, Page *et al.* 2007). De plus, une perfusion de MSG dans l'estomac, le duodénum et la veine porte augmente les activités afférentes des nerfs vagues gastriques, coeliaques et hépatiques (Nijima 2000; Uneyama, Gabriel *et al.* 2008). D'autres études ont montré que le L-glutamate, à travers l'action des NMDAR1, induit une contraction du muscle lisse/plexus myentérique de la partie longitudinale de l'iléon (Shannon and Sawyer 1989). Le plexus myentérique est une couche de neurones innervant le tractus gastro-intestinal, qui est largement responsable de la motilité gastro-intestinale. Le rôle des récepteurs au NMDA dans la motilité intestinale a été confirmé par la capacité du L-glutamate, de l'aspartate et du L-homocystéate à entraîner une contraction musculaire. La contraction était bloquée par des antagonistes au NMDA. Le L-glutamate a la meilleure potentialité pour avoir un effet contractile (Moroni, Luzzi *et al.* 1986). Une étude a montré que les récepteurs AMPA sont impliqués dans la modulation des effets des neurotransmetteurs dans le plexus myentérique de côlon isolé de porc (Giaroni, Zanetti *et al.* 2000). Les récepteurs AMPA semblent aussi participer à la modulation du péristaltisme. Ensuite, le blocage des récepteurs au NMDA, par des antagonistes spécifiques administrés intrapéritonéalement, accélère la vidange gastrique chez le rat (Covasa, Ritter *et al.* 2000).

Peu d'études ont observé l'effet direct de l'ingestion de MSG sur la vidange gastrique, le péristaltisme intestinal ou la satiété. Une étude, chez le chien, a montré que l'administration de MSG, par un cathéter gastrique ou duodénal, stimulait la motilité proximale intestinale et que cet effet pourrait accélérer la vidange gastrique (Toyomasu, Mochiki *et al.* 2010). Ces résultats sont toutefois en opposition avec ceux obtenus dans l'étude de Covasa *et al.* en 2000. Cette étude utilisant des antagonistes aux GluR montre que le glutamate serait impliqué dans un ralentissement de la vidange gastrique chez le rat. De manière intéressante, une étude a montré que le MSG ajouté à un repas liquide hyper-énergétique et hyperprotéique accélérerait significativement la vidange gastrique chez l'Homme (Zai, Kusano *et al.* 2009) (figure 5). Aucun effet du MSG n'a été observé lorsque celui-ci était ingéré avec de l'eau ou un repas hyperglucidique. Une seule étude a démontré qu'une supplémentation en MSG avec un repas hyperprotéique, n'avait pas d'influence sur les perceptions de satiété chez l'Homme mesurées par échelles analogiques visuelles (Luscombe-Marsh, Smeets *et al.* 2009). Seulement cette étude a observé les effets du MSG sur les hormones gastro-intestinales et n'a montré aucun effet de celui-ci. Les effets du MSG sur la vidange gastrique, le péristaltisme intestinale et la satiété sont peu nombreuses et parfois contradictoires en fonction du modèle utilisé (rat,

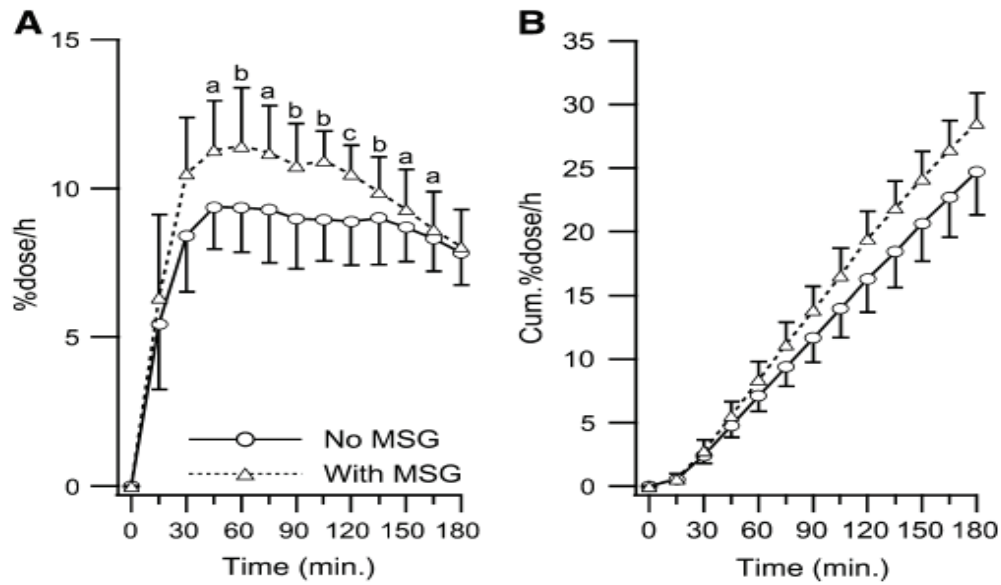


Figure 5 : Effet du monosodium glutamate (MSG) sur la vidange gastrique après un repas hyperprotéique. A : Courbe d'excrétion du $^{13}\text{CO}_2$ (%dose/h) après ingestion d'un repas hyperprotéique sans ou avec MSG (0,5% poids/volume). Il y a une interaction significative entre le temps et le traitement ($P < 0,0001$, ANOVA). Différences significatives a : $P < 0,05$, b : $P < 0,01$, c : $P < 0,001$. B : Excrétion cumulée de $^{13}\text{CO}_2$ (Cumul.%dose/h). Les valeurs sont des moyennes $\pm$ ET de 10 sujets (Zai, Kusano et al. 2009).

chien, homme), du mode d'administration et surtout des protocoles expérimentaux utilisés (blocage de récepteurs ou administration directe du MSG). Il est donc difficile de conclure sur la base de ces données quant à l'effet du glutamate sur la physiologie gastrointestinale.

2.3.2. Effet de la vidange gastrique et/ou du volume gastrique sur les phénomènes de rassasiement et de satiété

La relation entre vidange gastrique/volume gastrique/satiété/rassasiement est complexe. Il est tout d'abord important de définir ces différents termes. La vidange gastrique est un phénomène destiné à contrôler la quantité de nutriments libérée dans le duodénum, qui suit immédiatement le pylore. La dynamique de vidange gastrique va donc comprendre différentes phases, durant lesquelles le volume de l'estomac, la pression en son sein et la tension dans ses parois vont varier. Le volume gastrique est régulé par le duodénum par un système de rétrocontrôle : il commande l'ouverture ou la fermeture du pylore et donc le flux de nutriments transitant de l'estomac vers le duodénum (Schwartz and Moran 1998). Le duodénum permet donc d'assurer un approvisionnement approprié pour permettre une absorption optimale. La satiété est associée à l'arrêt de la sensation de faim, qui se développe une fois le repas terminé (Capasso and Izzo 2008). Le rassasiement est la sensation de pléthore gastrique qui initie l'arrêt de la prise alimentaire. Il commence dès le début du repas et augmente pour faire place à la sensation de satiété une fois le repas terminé.

Une fois passée la sphère oro-pharyngée, les nutriments arrivent dans l'estomac et commencent à le remplir. Les premiers instants du repas se traduisent par une forte augmentation du volume gastrique. A ce moment là, le pylore reste ouvert, ce qui entraîne une fuite rapide des nutriments vers le duodénum sans réelle régulation (van der Velde, Koslowsky et al. 1999). Ce phénomène se poursuit jusqu'à ce que le volume gastrique se stabilise, « entraînant » la fermeture du pylore (Kaplan, Spector et al. 1992). L'estomac envoie des signaux par le nerf vague au noyau du tractus solitaire (NTS) du tronc cérébral qui est impliqué dans le contrôle du rassasiement (fin du repas) durant un repas (Berthoud 2002). Après passage des nutriments dans l'intestin, ceux-ci vont être à l'origine de messages sanguins reconnus au niveau du cerveau (via le passage à travers la barrière hématoencéphalique) au niveau du NTS et de l'hypothalamus (contrôle de la satiété). Des hormones sont aussi sécrétées par le tissu adipeux, le pancréas et le tractus gastro-intestinal (Stanley, Wynne et al. 2005). La plupart des hormones ont un double mode d'action sur le système nerveux central. Elles agissent en effet à la fois au niveau du tractus gastro-intestinal,

via le nerf vague et aussi directement au niveau de l'hypothalamus et du tronc cérébral *via* le flux sanguin. Ces hormones sont : la CCK et le GLP-1 (action anorexigène), la ghréline (stimulation de la prise alimentaire) et l'insuline (action anorexigène). Les signaux ont donc des effets à la fois sur le pouvoir satiétogène du bol alimentaire, mais aussi sur son devenir métabolique.

La digestion est primordiale dans l'apparition des sensations de rassasiement/satiété. Classiquement, on attribue l'arrêt de la prise alimentaire à la distension gastrique par les aliments venant d'être ingérés. Un volume gastrique important inhibe la prise alimentaire (rassasiement), et cela indépendamment de la nature du contenu de l'estomac (Phillips and Powley 1996). Il a été montré que la mesure de la distension gastrique peut être un marqueur physiologique du rassasiement (de Graaf, Blom et al. 2004). L'estomac détecte les variations de volume grâce à des récepteurs mécano-sensibles situés dans sa paroi, en particulier des récepteurs de tension (Berthoud and Powley 1992). L'estomac envoie des signaux de rassasiement grâce à l'innervation vagale de la paroi (Berthoud, Carlson et al. 1991). Ces signaux sont volume dépendants et non nutriment dépendants (Mathis, Moran et al. 1998).

2.4.Effets au niveau du pancréas endocrine et exocrine

Les études sont controversées quant aux effets du MSG sur les sécrétions pancréatiques exocrines et endocrines. Les hormones synthétisées par le pancréas endocrine sont principalement les quatre hormones suivantes : l'insuline, le glucagon, la somatostatine et le polypeptide pancréatique. Le glucagon et l'insuline sont produits au niveau des îlots de Langerhans; par les cellules α (pour le glucagon) et β (pour l'insuline). Les cellules δ sécrètent, quant à elles, la somatostatine et les cellules PP produisent le polypeptide pancréatique. Pour les études sur les effets du glutamate sur les sécrétions endocrines, la plupart des études ont été effectuées chez l'animal et très peu chez l'Homme. Il faut savoir que, durant une incubation en présence de concentrations stimulantes de glucose, les concentrations cellulaires de L-glutamate totaux sont augmentés sur des îlots pancréatiques d'Homme, de souris et de rats tout comme dans les cellules β clonées (Newsholme, Brennan et al. 2005). De plus, l'apparition d'hyper-insulinémie a été rapportée chez des rats rendus obèses avec du MSG (Hirata, Andrade et al. 1997; de Souza, Nunes et al. 2003). D'autres études ont été effectuées pour déterminer l'effet direct de l'administration de MSG. Après perfusion dans la cavité orale d'une solution de MSG chez le rat, il a été observé une augmentation transitoire des concentrations circulantes en insuline, 3 min après la stimulation

orale (Nijima, Togyama et al. 1990). Dans les cellules β de rats, 1 mM de L-glutamate (une concentration non physiologique) stimule la sécrétion d'insuline (Hoy, Maechler et al. 2002) (figure 6). Bertrand *et al.* ont effectué de nombreux travaux sur ce sujet. En 1992, cette équipe a montré, qu'en présence d'une concentration intermédiaire de glucose (8,3 mM), le L-glutamate induit immédiatement et transitoirement un effet sécrétagogue dépendant de la concentration utilisée sur des pancréas isolés de rat en agissant sur les récepteurs AMPA (Bertrand, Gross et al. 1992). Ceci n'est pas observé avec une concentration faible de glucose (2,8 mM). En 1993, ils ont observé les mêmes effets du L-glutamate sur les concentrations en glucagon sur des pancréas isolés de rat (Bertrand, Gross et al. 1993). En 1995, ils ont montré que l'administration intraveineuse de L-glutamate, chez le rat nourri, augmente transitoirement les concentrations en insuline et ceci de manière dose-dépendante (Bertrand, Puech et al. 1995). Ces résultats n'ont pas été obtenus chez le rat à jeun. Cette équipe a obtenu les mêmes résultats après une administration intra-gastrique de L-glutamate chez le rat. La liaison aux récepteurs kainate et AMPA stimulent la libération d'insuline tandis que la liaison aux récepteurs NMDA est sans effet sur des îlots pancréatiques isolés de rats (Inagaki, Kuromi et al. 1995). Thomassen *et al.* observent qu'une administration intraveineuse de MSG (5 mg/kg) chez le volontaire sain stimule la sécrétion d'insuline (Thomassen, Nielsen et al. 1991). Une administration orale de MSG à haute dose (12,7 g), chez des sujets sains à jeun, entraîne une augmentation des concentrations plasmatiques en insuline sans altérer la glycémie (Fernstrom, Cameron et al. 1996). Après ingestion d'une large dose de MSG (10 g) avec une charge de glucose (75 g), il y a amplification de la sécrétion d'insuline induite par le glucose (Chevassus, Renard et al. 2002). Ces expériences ont permis de proposer qu'une augmentation de la concentration intracellulaire de glutamate dans les cellules β des îlots de Langerhans permettait d'augmenter la sécrétion d'insuline. MacDonald *et al.*, ont réfuté cette dernière proposition (MacDonald and Fahien 2000) en se basant sur le fait qu'aucune augmentation des concentrations intracellulaires en L-glutamate n'était observée suite à une incubation des îlots pancréatiques de rat en présence d'une forte concentration de glucose (16,7 mM) à fort pouvoir sécrétagogue.

La fonction exocrine du pancréas est la sécrétion des enzymes pancréatiques (trypsine, chymotrypsine, lipases, amylases, ...) dans le duodénum, par le canal de Wirsung. Peu d'études ont été effectuées pour déterminer les effets du L-glutamate ou du MSG sur les concentrations pancréatiques exocrines. Il a été montré qu'une forte concentration en L-glutamate était retrouvée dans les sécrétions pancréatiques (Fukushima, Doi et al. 2010). De plus, une stimulation orale par le MSG pourrait influencer la phase céphalique de sécrétion

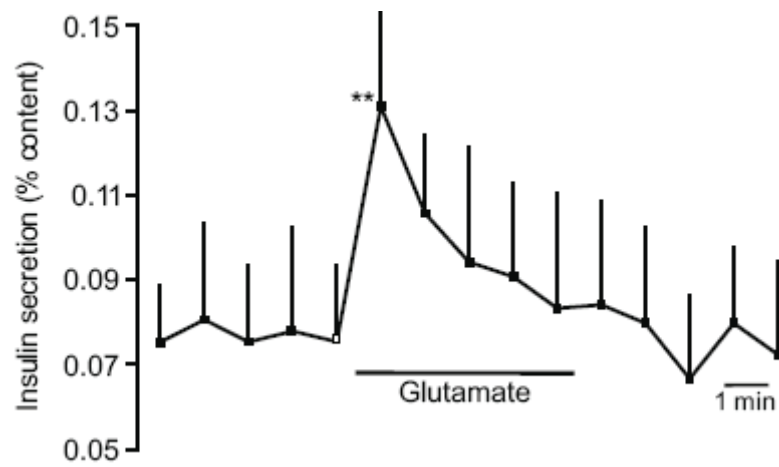


Figure 6 : Le glutamate stimule la sécrétion d'insuline dans les cellules β pancréatiques chez le rat. Effet du L-glutamate (1mM) sur la sécrétion d'insuline dans les cellules pancréatiques de rat. Les résultats sont exprimés moyenne $\pm$ SEM de 6 individus. ** $P < 0,01$ (Hoy, Maechler et al. 2002).

pancréatique exocrine chez le chien (Naim, Ohara et al. 1991). Dans ce modèle, le MSG ou le sucrose provoque une meilleure réponse pancréatique que le chlorure de sodium (Ohara, Otsuka et al. 1988).

Pour comprendre comment agit le glutamate, il est important de connaître le métabolisme de celui-ci et son implication dans les fonctions physiologiques. Le métabolisme du L-glutamate est décrit, ci-dessous, dans l'intestin, le foie et le muscle qui sont les organes qui ont été étudiés au cours de ma thèse.

3. METABOLISME DU L-GLUTAMATE

Le métabolisme et les fonctions physiologiques du L-glutamate dans les tissus ne peuvent être décrits sans considérer la L-glutamine car ces deux AA possèdent un devenir métabolique partiellement commun (Blachier, Boutry et al. 2009). Dans l'intestin, le L-glutamate joue un rôle de substrat énergétique pour les entérocytes et est le précurseur d'AA et de nombreux métabolites. Cela est vrai aussi pour la L-glutamine qui est utilisée dans les voies oxydatives et est métabolisée par les entérocytes pour la conversion en d'autres AA et pour la synthèse de protéines et des nucléotides puriques et pyrimidiques (Bertolo and Burrin 2008).

3.1. Métabolisme et fonction du L-glutamate dans l'intestin

L'épithélium intestinal est compartimenté en villosités et cryptes. Les entérocytes constituent environ 90% des cellules épithéliales dans les cryptes et plus de 95% dans les cellules des villosités. Le renouvellement de l'épithélium intestinal est assuré grâce à la prolifération et à la différenciation des cellules pluripotentes (Fan, Matthews et al. 2004). Les AA sont des précurseurs importants pour le renouvellement de l'épithélium intestinal car ils représentent à la fois des « fuels métaboliques » et des précurseurs pour la synthèse des protéines, des nucléosides et des polyamines (Kelly and Stanley 2001).

Etant donné que les entérocytes sont des cellules polarisées, il existe deux voies d'apport en nutriments, notamment en acides aminés. La première voie d'apport en acides aminés est l'apport entéral via les transporteurs présents dans les membranes apicales des entérocytes. La deuxième voie d'apport est l'apport à partir du sang artériel via les

transporteurs présents dans les membranes baso-latérales. En période postprandiale, la concentration des acides aminés et des peptides augmente considérablement dans le contenu luminal de l'intestin grêle (Adibi and Mercer 1973). La concentration en glutamine est très faible dans les entérocytes (Ducé, Darcy-Vrillon et al. 1995). Le gradient de concentration est donc dans le sens d'une entrée de glutamine dans les entérocytes. Le même raisonnement peut s'appliquer au glutamate luminal même si la concentration intracellulaire en glutamate est plus élevée dans les entérocytes que celle de la glutamine (Blachier, Darcy-Vrillon et al. 1991). Dans une situation interprandiale, la situation est bien entendu différente avec des concentrations en glutamate et glutamine beaucoup plus faibles dans le contenu luminal de l'intestin grêle. Dans ce cas, Windmueller *et al.* ont montré que les entérocytes pouvaient utiliser la glutamine sanguine comme substrat oxydatif (Windmueller and Spaeth 1975). De fait, la glutamine est présente en forte concentration dans le sang artériel et le gradient de concentration est donc en faveur d'une entrée de cet acide aminé dans les entérocytes à travers les transporteurs exprimés dans les membranes baso-latérales. Le cas du glutamate est différent dans le sens que sa concentration dans le sang circulant est beaucoup plus basse que celle de la glutamine. De plus, comme dit précédemment, le glutamate est beaucoup plus concentré dans les entérocytes que la glutamine. Dans les entérocytes, la glutamine et le glutamate provenant de la lumière intestinale ou d'origine artérielle suivent a priori la même destinée métabolique. La glutamine est convertie en glutamate sous l'action de la glutaminase mitochondriale (Souba, Smith et al. 1985). Le glutamate et la glutamine sont tous deux fortement métabolisés par l'épithélium intestinal lors du transfert de la lumière vers le sang porte. D'autres AA, comme par exemple l'arginine et la cyst(e)ine sont fortement métabolisés au niveau intestinal. Ainsi, 40% de l'apport entéral en arginine est utilisé par les entérocytes prélevés chez des animaux en dehors de la période néonatale (Wu, Bazer et al. 2007).

3.1.1. Le L-glutamate, un substrat oxydatif dans les cellules épithéliales de l'intestin

Après ingestion de L-glutamate libre ou lié aux protéines et aux peptides et digestion, le transport du L-glutamate du contenu luminal vers le sang se fait à travers la membrane apicale grâce à un système Na^+ -dépendant de haute affinité X_{AG}^- et grâce à un système B^0 de faible affinité. Il existe des différences majeures entre les deux systèmes (Berteloot 1984; Rajendran, Harig et al. 1987; Maenz and Patience 1992). Bien que le système B^0 ait pour fonction primaire de transporter les AA neutres, il est capable également de transporter le L-

glutamate (Kekuda, Torres-Zamorano et al. 1997). Le système X_{AG}^- est présent dans les cellules de manière très ubiquitaire ; sa présence ayant été rapportée dans de nombreux phénotypes cellulaires : fibroblastes, cellules rénales, musculaires et squelettiques, érythrocytes, hépatocytes... Le L-glutamate et le L- aspartate sont les principaux substrats pour le système X_{AG}^- (Corcelli, Prezioso et al. 1982; Berteloot 1984; Rajendran, Harig et al. 1987; Mailliard, Stevens et al. 1995). Par rapport au système B^0 , 4 protéines ont été identifiées : L-glutamate/aspartate transporter 1 (GLAST-1), L-glutamate transporter 1 (GLT-1), « excitatory amino acid carrier 1 » (EAAC-1) et « excitatory amino acid transporters 4 et 5 » (EAAT-4 et -5). Récemment, l'expression de EAAC-1 a été examinée chez le rat (Erickson, Gum et al. 1995; Rome, Barbot et al. 2002). Dans la muqueuse intestinale, les protéines EAAC-1 et GLT-1 ont été identifiées chez le mouton (Howell, Matthews et al. 2001; Howell, Matthews et al. 2003). GLAST-1 est exprimé dans les lignées cellulaires de cellules épithéliales intestinales cryptiques IEC-17 (Mordrelle, Huneau et al. 1997) et dans les lignées cellulaires Caco-2 provenant d'un carcinome colorectal différencié humain. Après digestion terminale des peptides luminaux, grâce aux activités catalytiques des peptidases des bordures en brosse des entérocytes, des di- et tri-peptides (incluant ceux contenant le L-glutamate) entrent dans les entérocytes grâce à un transporteur de peptides couplé à un transport de protons PepT1 (Saito, Terada et al. 2008) et libèrent le L-glutamate par l'action des peptidases cytosoliques (Schiller, Huang et al. 1977).

Ensuite, le L-glutamate libre est largement métabolisé par les entérocytes dans de multiples voies métaboliques incluant celles impliquées dans la production d'énergie pour les entérocytes. Plusieurs études ont montré que 95% du L-glutamate alimentaire présenté à la muqueuse intestinale est métabolisé au premier passage (Reeds, Burrin et al. 2000). En 1957, Neame et Wiseman montrent pour la première fois, chez le chien, qu'une très faible proportion de L-glutamate apparaît dans la circulation sanguine (Neame and Wiseman 1957). Ce qui a été confirmé ensuite, en 1973, par Abidi et Mercer qui ont mesuré les concentrations en AA dans les contenus jéjunaux de l'intestin grêle chez l'Homme sain (Adibi and Mercer 1973). Ils ont montré que 3h après l'ingestion d'un repas test contenant de l'albumine sérique bovine, les concentrations en L-glutamate étaient très élevées (2,6 mmol/L), que le L-glutamate était l'AA le plus abondant dans les peptides luminaux et ses concentrations plasmatiques étaient très faibles (58 μ mol/L). De nombreuses études ont observé les mêmes résultats par la suite. Chez l'Homme sain, il a été montré que pratiquement tout le L-glutamate délivré par voie entérale, est utilisé par l'aire splanchnique au premier passage (Matthews, Marano et al. 1993; Battezzati, Brillon et al. 1995). Chez le porcelet également,

tout le L-glutamate entéral est métabolisé au premier passage (Reeds, Burrin et al. 1996). Ceci est expliqué par le fait que le L-glutamate alimentaire est le plus important substrat pour le métabolisme oxydatif de la muqueuse (Stoll, Burrin et al. 1999). Le tableau 5 récapitule les différentes études effectuées chez l'Homme, le porcelet et le rat montrant un rôle important du L-glutamate comme source d'énergie pour l'intestin. Le L-glutamate entéral est probablement aussi important que la L-glutamine comme substrat oxydatif pour l'intestin (Battezzati, Brillon et al. 1995; Stoll, Burrin et al. 1999; Haisch, Fukagawa et al. 2000). Ce dernier AA doit être converti en glutamate par la glutaminase mitochondriale avant conversion en α -cétoglutarate et entrer dans le cycle de Krebs. L'oxydation représente le principal devenir métabolique du L-glutamate au niveau des entérocytes (Burrin, Janeczko et al. 2008; Burrin and Stoll 2009). Les travaux de Windmueller et Spaeth ont montré que le dioxyde de carbone est le principal produit terminal du métabolisme du L-glutamate chez le rat (Windmueller and Spaeth 1975). Ceci a été confirmé avec l'utilisation d'isotope stable *in vivo* chez le porc nouveau-né ayant ingéré un régime à base de lait (Reeds, Burrin et al. 2000). Ashy et Ardawi ont rapporté, quand ils sont utilisés à la même concentration, que le L-glutamate et la L-glutamine sont capables d'augmenter les consommations basales d'oxygène de manière similaire dans des entérocytes humains isolés (Ashy, Salleh et al. 1988).

Les étapes métaboliques impliquées dans l'oxydation du L-glutamate dans les entérocytes commencent par une transamination avec l'oxaloacétate pour produire de l' α -cétoglutarate et du L-aspartate (figure 7). Le L-glutamate peut aussi être transaminé en présence de pyruvate pour produire de la L-alanine et de l' α -cétoglutarate. La transamination apparaît être la principale voie par laquelle le L-glutamate est converti en α -cétoglutarate dans les entérocytes parce que ces cellules ont une faible capacité de conversion du L-glutamate en α -cétoglutarate (et ammoniacque) grâce à la glutamate déshydrogénase (Madej, Lundh et al. 2002). La transamination étant la principale voie de conversion du glutamate en α -cétoglutarate par rapport à la voie glutamate déshydrogénase faiblement exprimée dans les entérocytes, a pour conséquence de permettre une synthèse d'alanine et d'aspartate sans production d'ammonium. L'alanine peut être utilisée au niveau hépatique pour la néoglucogenèse. L'aspartate peut être utilisée au niveau hépatique pour le fonctionnement du cycle de l'urée. L' α -cétoglutarate, produit par transamination, peut alors entrer dans le cycle de Krebs et son métabolisme ultérieur produit des coenzymes réduites (NADH, FADH₂) utilisées par les mitochondries pour synthétiser de l'ATP. Le L-aspartate, produit par la transamination du L-glutamate, peut entrer dans les mitochondries et peut être oxydé par le

Tableau 5 : Etudes suivant les effets du glutamate sur l'extraction splanchnique (Bertolo and Burrin 2008)

Extraction (%)	Oxydés (%) ¹	Modèles	Références	Type d'étude
Entérale				
88	ND	Hommes adulte	(Matthews, Marano et al. 1993)	IG-IV
96	81	Hommes adulte	(Battezzati, Brillon et al. 1995)	IG-IV
74	86	Enfant prématuré	(Riedijk, de Gast-Bakker et al. 2007)	IG-IV
98	60	Rat adulte	(Windmueller and Spaeth 1975)	Intestin grêle
95	ND	Jeune porc	(Reeds, Burrin et al. 1996)	VP
96	52	Jeune porc	(Stoll, Burrin et al. 1999)	VP
97	49	Jeune porc	(Janeczko, Stoll et al. 2007)	VP
Artérielle				
Négligeable	ND	Hommes adulte	(Darmaun, Matthews et al. 1986)	IG-IV
Négligeable	ND	Hommes adulte	(Matthews, Marano et al. 1993)	IG-IV
Négligeable	79	Hommes adulte	(Battezzati, Brillon et al. 1995)	IG-IV

¹ % oxydés signifie le % de glutamate extrait qui a été oxydé. ND : Non Déterminé. IG-IV : études comparant une infusion orale et intraveineuse de traceurs. VP : études employant des échantillons au niveau de la veine porte.

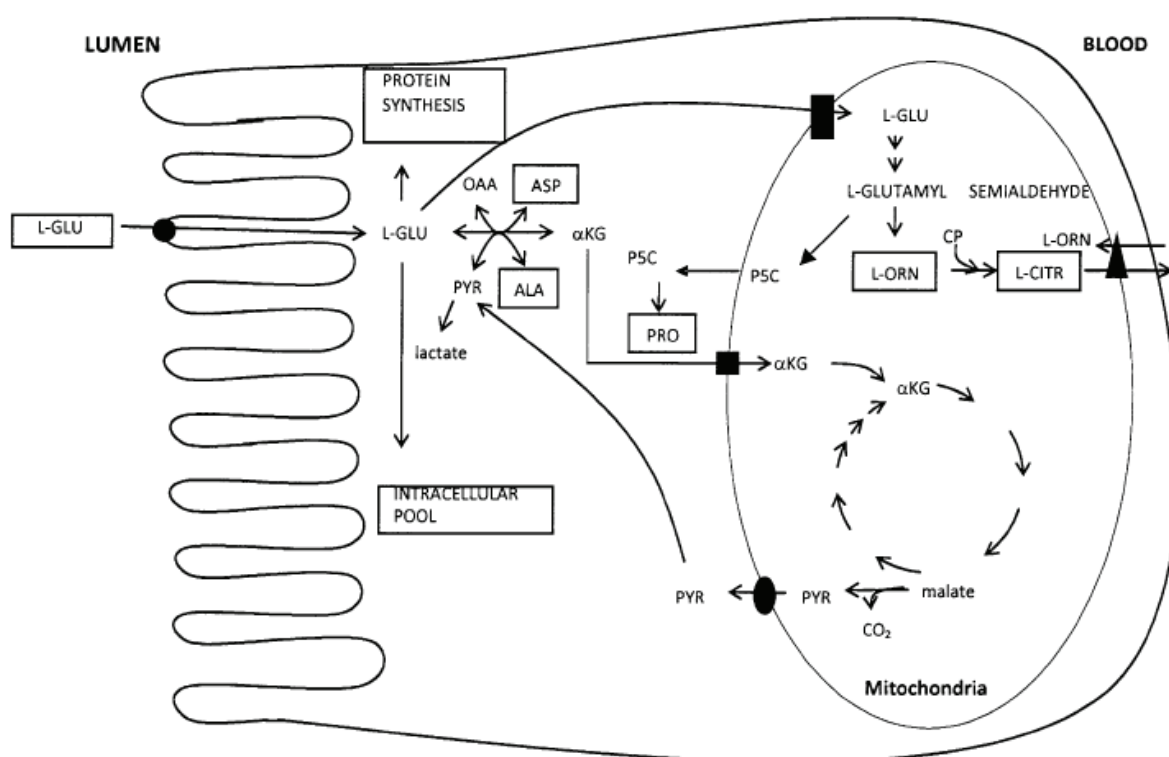


Figure 7 : Schéma du métabolisme du L-glutamate (L-GLU) dans les cellules épithéliales absorbantes de l'intestin grêle. Il représente les AA produits dans les entérocytes à partir de L-GLU comme la conversion de L-GLU en α-cétoglutarate (αKG). OAA : oxaloacétate, ASP : L-aspartate, PYR : pyruvate, ALA : L-alanine, L-ORN : L-ornithine, L-CITR : L-citrulline, CP : carbamoylphosphate, P5C : pyruline-5-carboxylate, PRO : L-proline (Blachier, Boutry et al. 2009).

cycle de Krebs (Windmueller and Spaeth 1976). L'aspartate représente donc un autre « fuel » oxydatif pour les entérocytes. Le L-glutamate et la L-glutamine sont oxydés de manière similaire par les entérocytes (Blachier, Guihot-Joubrel et al. 1999) ce qui est conforme aux expériences de consommation d'oxygène. Cependant, comme indiqué précédemment, pour la L-glutamine, l'AA doit d'abord entrer dans la mitochondrie et être dégradé en ammoniacque et L-glutamate par la glutaminase phosphate-dépendante, qui est abondante dans les mitochondries des entérocytes à la fois dans les cellules des villosités et des cryptes (Pinkus and Windmueller 1977). Le L-glutamate, produit dans ces mitochondries, peut être exporté dans le cytosol où il est métabolisé en α -cétooglutarate avant de retourner dans la mitochondrie et d'intégrer le cycle de Krebs (Duee, Darcy-Vrillon et al. 1995). Cependant, l'enzyme, l'aspartate aminotransférase (ASAT) qui permet de convertir le L-glutamate en α -cétooglutarate a été détecté dans les mitochondries d'entérocytes. L'activité relative de cette enzyme est toutefois mineure (26% de l'activité totale) au niveau des mitochondries des entérocytes de rats (Masola, Peters et al. 1985). Les transaminations du L-glutamate ont donc lieu principalement dans le cytosol des entérocytes. De cette façon, le L-glutamate et la L-glutamine peuvent être tous les deux des sources pour la production d'énergie dans les entérocytes. Quand ils sont tous les deux présents dans les entérocytes, le L-glutamate est capable d'inhiber l'utilisation de la L-glutamine et son oxydation (Blachier, Guihot-Joubrel et al. 1999). Cet effet d'épargne de la L-glutamine par le L-glutamate est probablement dépendant des concentrations relatives de chaque AA dans les entérocytes.

La production d'ATP et son utilisation sont particulièrement actives dans les entérocytes. Bien que le tractus gastro-intestinal représente seulement 5% du poids corporel, il utilise 20% de la consommation d'oxygène du corps entier (Yen, Nienaber et al. 1989; Vaugelade, Posho et al. 1994). Les cellules épithéliales intestinales ont une haute demande en énergie (Watford, Lund et al. 1979) à cause du renouvellement rapide de l'épithélium chaque jour (Grossmann, Mohr et al. 1998; Moore and Lemischka 2006) et du processus d'expulsion du sodium à travers la membrane basolatérale grâce à l'activité Na/K ATPase (Buttgereit and Brand 1995).

La L-glutamine, et non le L-glutamate, peut être utilisée pour la synthèse de N-acétylglucosamine et N-acétylgalactosamine, impliqués dans la synthèse de mucines intestinales (Reeds and Burrin 2001). A cause d'une très faible activité de la glutamine synthétase dans la muqueuse intestinale (James, Lunn et al. 1998), la capacité de synthèse *de novo* de L-glutamine à partir de L-glutamate est très limitée. Cette modeste expression de la

glutamine synthétase est localisée essentiellement dans les régions des cryptes de l'intestin grêle où la mitose des cellules est active (Roig, Shenoy et al. 1995).

3.1.2. Le L-glutamate, un précurseur d'autres acides aminés et de la synthèse protéique dans la muqueuse intestinale

En plus de l'utilisation de L-glutamate avec d'autres AA pour la synthèse des protéines dans la muqueuse intestinale (Bos, Stoll et al. 2005), cet AA peut être utilisé par les entérocytes pour produire d'autres AA, incluant le L-aspartate (Blachier, Guihot-Joubrel et al. 1999), la L-alanine (Wu, Borbolla et al. 1994), la L-proline (Wu, Knabe et al. 1994), la L-ornithine (Henslee and Jones 1982) et la L-citrulline (Wu, Knabe et al. 1994). La L-ornithine et la L-citrulline ne sont pas présentes dans les protéines mais jouent un rôle important dans le métabolisme inter-organes. Comme décrit précédemment, le L-aspartate et la L-alanine sont produits par transamination du L-glutamate en présence d'oxaloacétate et de pyruvate respectivement (Kight and Fleming 1995). Le L-glutamate peut aussi servir de précurseur pour la production de L-ornithine dans les mitochondries, puis la L-ornithine peut servir de substrat pour la production de L-citrulline (figure 8). La L-citrulline peut à la fois être synthétisée à partir de L-glutamine ou de L-glutamate puisque la glutamine est convertie en glutamate par la glutaminase dans les mitochondries des entérocytes (Windmueller and Spaeth 1975). Toutefois, parce que l'activité de la glutaminase est fortement présente dans les cellules épithéliales de l'intestin, l'utilisation de L-glutamine dans les entérocytes (Weber and Veach 1979) (et contrairement à l'utilisation du glutamate) produit une quantité considérable d'ammoniaque (Windmueller and Spaeth 1975; Blachier, Guihot-Joubrel et al. 1999). Il a été montré que la L-glutamine et la L-arginine travaillent en synergie pour la production de L-citrulline par les entérocytes (Guihot, Blachier et al. 1997). En effet, dans les entérocytes, la L-arginine est un meilleur précurseur pour la production de L-ornithine (via l'activité de l'arginase) par rapport à la L-glutamine (Blachier, Darcy-Vrillon et al. 1991) et la L-glutamine à travers l'activité catalytique de la glutaminase mitochondriale produit de l'ammoniaque qui sert de précurseur pour la production de carbamoylphosphate (Wu, Knabe et al. 1994). Ce dernier métabolite est un co-substrat pour la synthèse de L-citrulline. La L-glutamine et le L-glutamate peuvent également être convertis en L-proline (Jones 1985). L'intestin grêle possède une activité significative de P5C déshydrogénase (P5CDH) pour la synthèse de L-proline. De même, dans l'intestin grêle, il y a présence des activités ornithine aminotransférase (OAT), carbamoyl phosphate synthetase I (CPS-I) et ornithine

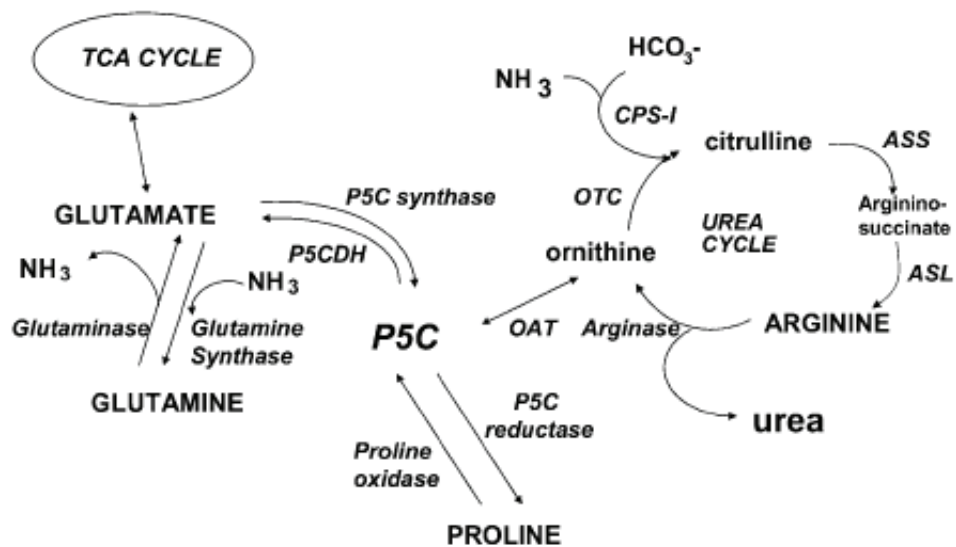


Figure 8 : Voies métaboliques du glutamate, de la glutamine et des acides aminés associés. TCA : acide tricarboxylique, P5C : pyroline-5-carboxylate, P5CDH : P5C dehydrogenase, OAT : ornithine aminotransférase, OTC : ornithine transcarbamoylase, CPS-I : carbamoyl phosphate synthetase, ASS : argininosuccinate synthétase, ASL : argininosuccinate lyase (Bertolo and Burrin 2008)

transcarbamylase (OTC). Parce que les activités argininosuccinate synthétase (ASS) et argininosuccinate lyase (ASL) intestinales sont faibles, la citrulline est libérée dans la circulation portale, et peu d'arginine est synthétisée par l'intestin. La présence dans l'intestin grêle d'une activité arginase appréciable, fait que ce dernier représente un site de production d'urée, une capacité métabolique prédominante au niveau hépatique (Cynober 2002). Enfin, la proline oxydase et l'OAT permettent à la proline de servir de précurseur pour la synthèse de citrulline dans l'intestin.

3.1.3. Le L-glutamate, un précurseur de glutathion et d'acétylglutamate dans la muqueuse intestinale

Avec la L-cystéine et la L-glycine, le L-glutamate est un précurseur pour la synthèse de glutathion dans le cytosol des entérocytes (figure 9). Cette réaction est probablement davantage limitée par la présence de la L-cystéine que par celle du L-glutamate. Des études chez le porc ont suggéré une utilisation importante de la cystéine alimentaire par l'intestin (Shoveller, Stoll et al. 2005). Cet AA est aussi métabolisé par les entérocytes isolés (Coloso and Stipanuk 1989). Il a été montré que le glutathion de la muqueuse intestinale provient largement du métabolisme direct du L-glutamate entéral chez le porcelet à l'état nourri (Reeds, Burrin et al. 1997). Le ratio entre le glutathion réduit et oxydé dans les entérocytes est un marqueur du statut redox intracellulaire (Chakravarthi, Jessop et al. 2006) du fait de son rôle dans le contrôle des concentrations des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Kemp, Go et al. 2008). En effet, il a été montré que l'inhibition pharmacologique de la synthèse de glutathion (administration de L-buthionine-SR-sulfoximine, inhibiteur de l'enzyme γ -glutamylcystéine synthétase) dans la muqueuse est associée à une altération des fonctions intestinales qui peut être évitée par l'ingestion de mono-ester de glutathion (Martensson, Jain et al. 1990). En plus de la synthèse de glutathion dans la muqueuse, les entérocytes humains sont capables d'importer du glutathion extracellulaire (Iantomasi, Favilli et al. 1997).

Le L-glutamate dans les entérocytes est aussi impliqué dans une voie métabolique quantitativement mineure qui est la synthèse de N-acétylglutamate (NAG). Le NAG est produit à partir d'acétyl-coenzyme A et de L-glutamate par la NAG synthase. Cette enzyme est détectée à la fois dans la muqueuse intestinale (Wakabayashi, Iwashima et al. 1991) ou dans les entérocytes (Uchiyama, Mori et al. 1981). Elle peut être activée par la L-arginine et est retrouvée dans la mitochondrie des entérocytes, ainsi que les activités carbamoyl

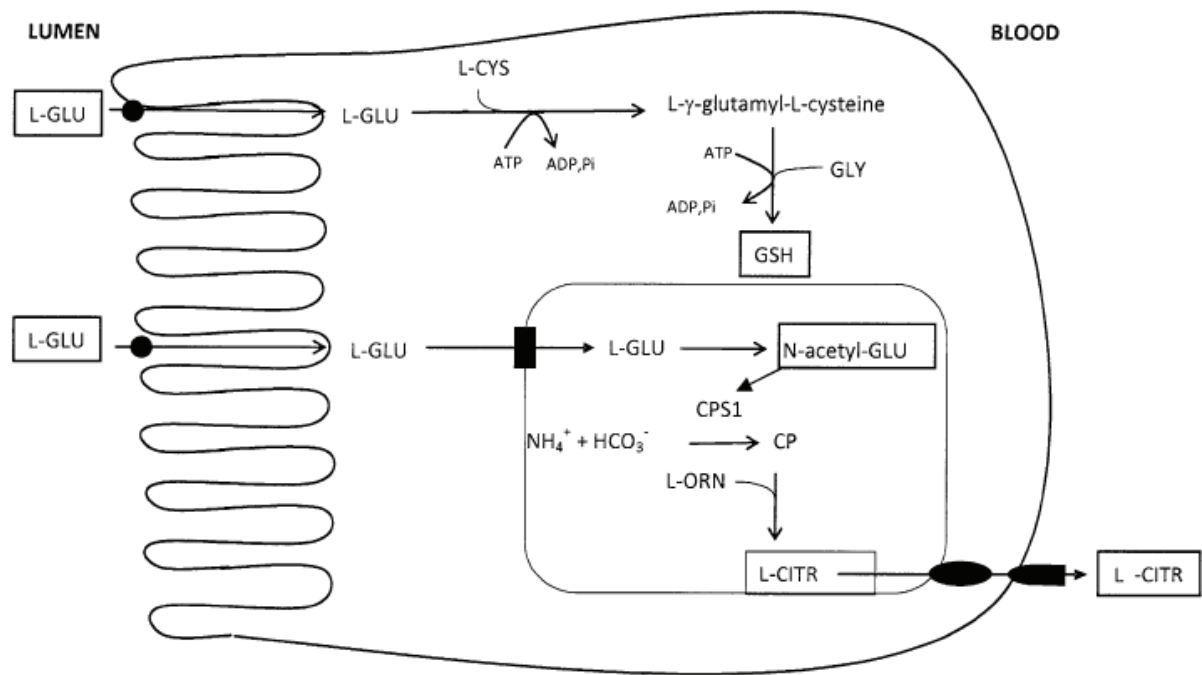


Figure 9 : Schéma de la conversion de L-glutamate (L-Glu) en glutathion (GSH) et N-acétylglutamate (N-acétyl-GLU) dans les cellules épithéliales absorbatives du gros intestin. Ce schéma représente l'activation de la carbamoylphosphate synthétase 1 (CPS1) par le N-acétyl-GLU pour la production de L-citrulline (L-CITR). L-CYS : L-cystéine, GLY : L-glycine, L-ORN : L-ornithine, CP : carbamoylphosphate (Blachier, Boutry et al. 2009).

synthétase 1 et l'ornithine carbamoyltransférase (Guihot, Blachier et al. 1997). Parce que le NAG est un activateur allostérique obligatoire de la carbamoyl synthétase, ce métabolite augmente probablement la capacité des entérocytes à produire de la L-citrulline.

3.1.4. Métabolisme du L-glutamate et de la L-glutamine dans les cellules épithéliales du côlon

Il est connu qu'il y a une différence importante entre l'environnement luminal de l'intestin grêle et du gros intestin, ainsi que dans la morphologie de la muqueuse lorsque l'on compare l'intestin grêle (présence de villosités) et le gros intestin (présence d'un épithélium de plateau). L'épithélium colique (comme l'épithélium de l'intestin grêle) a un renouvellement rapide (Potten 1997). Ce processus de renouvellement constant, en plus des activités des colonocytes pour transporter de l'eau et des électrolytes, fait que les cellules épithéliales coliques sont, tout comme les entérocytes, de fortes consommatrices d'énergie (Ardawi and Newsholme 1985). Par conséquent, il est important d'identifier les substrats oxydatifs de ces cellules qu'ils soient d'origine sanguine ou luminale. Les contenus luminaux sont caractérisés par une haute concentration en métabolites bactériens, beaucoup d'entre eux servent de « fuel » alors que d'autres sont suspectés être des « perturbateurs » du métabolisme énergétique quand ils sont présents en excès (Blachier, Mariotti et al. 2007). Une autre caractéristique importante de l'épithélium colique est qu'il y a très peu ou pas de transfert d'AA du lumen vers le sang portal, sauf pendant une très courte période après la naissance (Smith and James 1976). Les AA (incluant la L-glutamine et le L-glutamate) doivent être captés par les colonocytes à partir du sang artériel. Les cellules de l'épithélium colique différenciées peuvent utiliser la L-glutamine du plasma comme un substrat oxydatif (Firmansyah, Penn et al. 1989). La L-glutamine est d'abord convertie en L-glutamate et en ammoniacque par la glutaminase mitochondriale et ensuite en α -cétoglutarate par transamination avant d'entrer dans le cycle de Krebs (Duee, Darcy-Vrillon et al. 1995). Les colonocytes peuvent aussi utiliser les acides organiques luminaux générés par l'activité microbienne, incluant les acides gras à chaîne courte comme substrat oxydatif (figure 10). Les substrats alimentaires pour la production d'acides gras à chaîne courte sont les fibres alimentaires, l'amidon résistant et les protéines (Mortensen and Clausen 1996). Bien que la digestion des protéines alimentaires suite à l'absorption d'oligopeptides et d'AA par l'intestin grêle est efficace (Bos, Stoll et al. 2005), une quantité substantielle de composés azotés d'origine endogène et exogène passe dans le gros intestin à travers la jonction iléo-caecale.

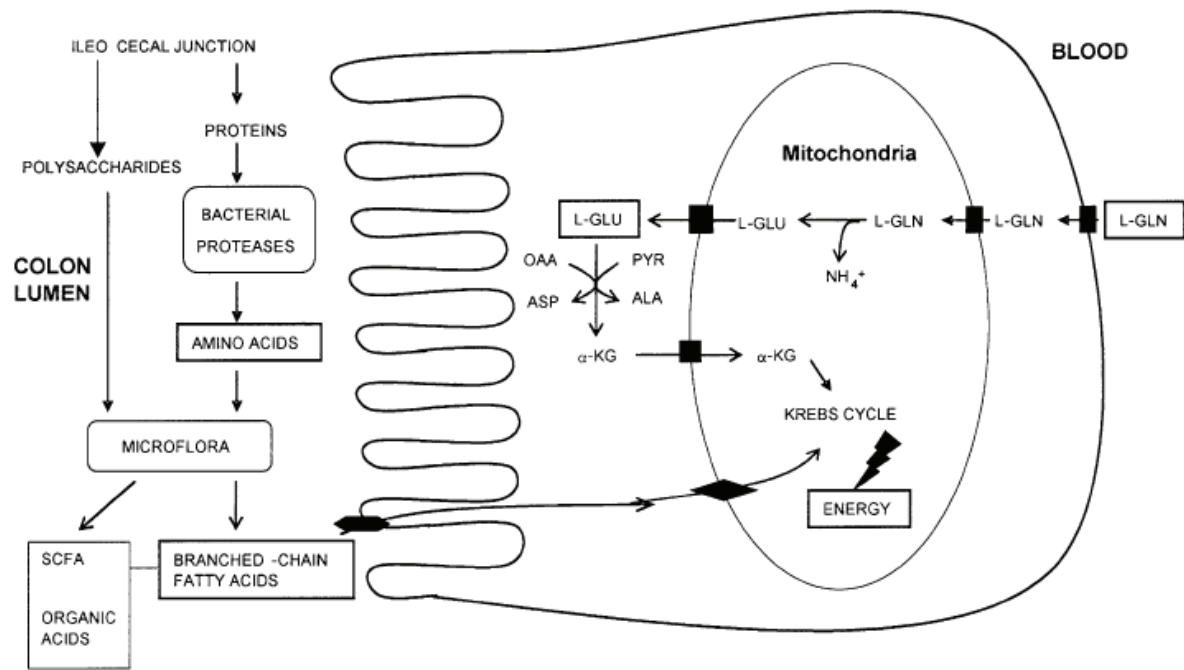


Figure 10 : Schéma de la production d'énergie dans les cellules épithéliales absorbantes du gros intestin à partir du L-glutamate (L-GLU) plasmatique et des métabolites bactériens luminaux. Ces métabolites sont produits à partir de polysaccharides et d'acides aminés. Parmi les acides aminés, le L-GLU peut servir de précurseur pour la production de butyrate et d'acétate, qui sont des substrats oxydatifs pour les colonocytes. SCFA : Acide gras à chaîne courte, L-GLN : L-glutamine, OAA : oxaloacétate, ASP : L-aspartate, PYR : pyruvate, ALA : L-alanine, αKG : α-cétoglutarate (Blachier, Boutry et al. 2009).

Chez l'Homme, ce matériel azoté provenant principalement des protéines et des peptides (Chacko and Cummings 1988) est quantitativement corrélé à la quantité de protéines ingérées (Silvester and Cummings 1995) et représente entre 6 et 18 g/j (Gibson, Sladen et al. 1976). Le premier évènement dans la dégradation des protéines coliques, est l'hydrolyse des protéines et des polypeptides par les protéases et les peptidases, qui entraînent la libération de peptides et d'AA, suivie par la production de nombreux métabolites bactériens. Ces composés peuvent exercer des effets (bénéfiques ou délétères) sur le métabolisme et les fonctions des cellules épithéliales coliques mais l'étude de ces effets a été très peu développée. L'étude de ces effets a été très peu développée. La nature et l'ampleur de ces effets dépendent des facteurs suivants : les concentrations luminales (qui peuvent être modifiées par l'alimentation), le temps de transit colique, la capacité détoxifiante des cellules épithéliales en réponse à l'augmentation de la quantité de composés délétères et l'utilisation métabolique cellulaire des métabolites luminaux et leurs effets sur le métabolisme intermédiaire et oxydatif des colonocytes (Blachier, Mariotti et al. 2007).

Dans la lumière du gros intestin, le L-glutamate libéré par les protéines et les peptides est le précurseur pour la production d'acétate et de butyrate, mais la part respective du L-glutamate et des polysaccharides alimentaires pour la production d'acétate et de butyrate n'a pas été déterminée. L'activité de la glutamine synthétase, contrairement à la situation dans la muqueuse de l'intestin grêle, est relativement élevée dans la muqueuse du gros intestin (James, Lunn et al. 1998). Récemment, il a été montré que l'activité de la glutamine synthétase dans des colonocytes isolés de rat est dix fois plus importante que l'activité mesurée dans des entérocytes isolés (Andriamihaja, Davila et al. 2010). Parce que la glutaminase, enzyme dégradant la glutamine, a une expression élevée dans les colonocytes (Cherbuy, Darcy-Vrillon et al. 1995), cela soulève la question ouverte de la signification physiologique de l'expression, au sein d'une même cellule, d'enzymes de synthèse et de dégradation de la L-glutamine. Parce que l'ammoniaque, à une concentration que l'on trouve dans la lumière colique, inhibe l'oxydation des acides gras à chaîne courte dans les cellules épithéliales coliques (Darcy-Vrillon, Cherbuy et al. 1996; Cremin, Fitch et al. 2003), l'hypothèse a été proposée selon laquelle l'activité de la glutamine synthétase cytosolique, qui convertit le L-glutamate et l'ammoniaque en L-glutamine, représenterait une voie pour réduire les concentrations intracellulaires en ammoniaque durant son transfert de la lumière vers la circulation sanguine. L'activité de la glutamine synthétase dans les colonocytes peut aussi correspondre à un ajustement précis des concentrations intracellulaires en L-glutamine car il a été montré, dans des expériences *in vitro*, que cet AA pourrait être impliqué dans le

contrôle de la synthèse protéique (Le Bacquer, Nazih et al. 2001) et dans le contrôle de l'apoptose induite par des cytokines (Evans, Jones et al. 2005).

Grâce aux données disponibles, il apparaît que la production d'énergie dans les colonocytes est dépendante d'un métabolisme complexe entre les substrats à la fois d'origine luminale et sanguine. Ce métabolisme fait intervenir le L-glutamate. L'utilisation de L-glutamate dans les colonocytes n'est pas restreinte au métabolisme énergétique. La synthèse de glutathion *de novo* et le transport de ce tripeptide se produisent dans les colonocytes (Roediger and Babidge 1997). Enfin, le métabolisme de la L-glutamine dans des colonocytes isolés après conversion en L-glutamate permet une production nette d'aspartate et d'alanine (Darcy-Vrillon, Morel et al. 1993). La capacité des colonocytes à utiliser de la L-glutamine est importante mais est plus faible que dans les entérocytes (Roediger 1982). De manière cohérente, l'activité glutaminase phosphate-dépendante est plus faible dans les colonocytes par rapport aux entérocytes (Ardawi, Majzoub et al. 1991). Contrairement à ce qui est observé dans les entérocytes (Blachier, Darcy-Vrillon et al. 1991), les colonocytes isolés à partir de côlons de rats et de cochons produisent plus de L-aspartate que de L-alanine à partir de L-glutamine (Ardawi and Newsholme 1985; Darcy-Vrillon, Morel et al. 1993). Cela est confirmé dans les colonocytes qui présentent la plus haute activité de l'aspartate aminotransférase par rapport à l'alanine aminotransférase.

3.2. Métabolisme et fonction du L-glutamate dans le foie

Le foie est constitué de lobules hépatiques disposés autour d'une veine centrolobulaire et composés de cellules hépatiques épithéliales nommées hépatocytes (60% des cellules) et de cellules du système réticuloendothélial (40% des cellules).

Le foie est le site de nombreux processus métaboliques dont le métabolisme des AA. Le foie prélève une partie des AA libérés par l'intestin dans la veine porte et capte des AA lui parvenant par voie artérielle. Au niveau du foie, la captation du L-glutamate pourrait faire intervenir un système x_C^- . Le système x_C^- est Na^+ -indépendant mais Cl^- -dépendant. C'est un antiport de la L-cystine et du L-glutamate. Ce système a été décrit dans les fibroblastes, les macrophages, les cellules endothéliales et les hépatocytes (Castagna, Shayakul et al. 1997).

3.2.1. Rôle central du L-glutamate dans le métabolisme hépatique

Le L-glutamate est un AA situé à un carrefour métabolique. Le tableau 6 récapitule les enzymes hépatiques du métabolisme du L-glutamate (Brosnan and Brosnan 2009). Ces

Tableau 6 : Liste des enzymes hépatiques du métabolisme du glutamate (Brosnan and Brosnan 2009)

<i>Enzymes réversibles</i>
Alanine aminotransférase
Glutamate déhydrogénase
<i>Enzymes qui produisent du glutamate</i>
Glutaminase
5-oxoprolinase
Pyroline-5-carboxylate déhydrogénase
Glutamate formiminotransférase
<i>Enzymes qui utilisent le glutamate</i>
N-acétylglutamate synthétase
Glutamine synthétase
γ -glutamylcystéine synthétase
Glutamate décarboxylase
Glutamate- γ -aminobutyrate aminotransférase
Folylpolyglutamylate synthétase
Folylpolyglutamylate hydrolase
Glutamyl-ARNt synthétase

enzymes sont à la fois des enzymes de réactions réversibles et des enzymes qui produisent ou qui utilisent le L-glutamate.

Le métabolisme de la plupart des AA (sauf la glutamine) est initié par une aminotransférase dans lequel le L-glutamate et l' α -cétoglutarate sont des partenaires de réaction (Brosnan and Brosnan 2009). La glutamate déshydrogénase produit l'ammoniaque à partir du glutamate qui fournit un des deux azotes de l'urée par la carbamoyl phosphate synthétase-I (CPS-I). L'aspartate aminotransférase transfère le groupe amine du L-glutamate à l'oxaloacétate pour produire de l'aspartate qui peut ensuite introduire le second azote de l'urée dans le cycle de l'urée par l'arginosuccinate synthétase. En plus d'être un intermédiaire pour la production d'ammoniaque, le L-glutamate est un substrat pour les activateurs allostériques du cycle de l'urée. En effet, comme décrit précédemment, le NAG, un activateur obligatoire de CPS-I (enzyme contrôlant la synthèse d'urée), est produit à partir de l'acétyl coenzyme A et du L-glutamate par la NAG synthétase au sein des mitochondries hépatiques (Bachmann, Krahenbuhl et al. 1982). En effet, la L-glutamine peut être clivée par la glutaminase pour fournir du L-glutamate et de l'ammoniaque (Newsholme, Procopio et al. 2003). Puis la carbamoyl phosphate synthétase I (CPS-I) peut catalyser la réaction suivante : $2 \text{ ATP} + \text{HCO}_3^- + \text{NH}_3 \rightarrow \text{carbamoyl-phosphate} + 2 \text{ ADP} + \text{Pi}$. Cette enzyme est allostériquement activée par le NAG et peut donc être indirectement régulée par les concentrations en L-glutamate. Le carbamoyl-phosphate (CP) combiné avec la L-ornithine dans le cycle de l'urée pour produire, en présence d'aspartate, de la L-citrulline qui est par la suite convertie en arginosuccinate puis en arginine (figure 11). L'arginine est ensuite clivée par l'arginase pour produire de l'urée et de l'ornithine. Dans les tissus des mammifères, une autre CPS existe, appelée CPS-II qui est indépendante du fonctionnement du cycle de l'urée. C'est une large protéine cytosolique multifonctionnelle (Hewagama, Guy et al. 1999) qui catalyse la formation de carbamoyl-phosphate : $2 \text{ ATP} + \text{HCO}_3^- + \text{glutamine} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{carbamoyl-phosphate} + \text{L-glutamate} + 2 \text{ ADP} + \text{Pi}$. Elle sert à la synthèse de nucléotides.

Dans le cas de la glutamine, le foie peut simultanément la cataboliser et la synthétiser. Les substrats pour la synthèse de glutamine sont, bien sûr, le L-glutamate et l'ammoniaque. Le L-glutamate permet de « tamponner » l'ammoniaque et de transporter ce métabolite potentiellement toxique sous forme d'urée. La glutamine synthétase permet de former de la glutamine à partir d'ammoniaque et de L-glutamate. La glutamine est le transporteur inter-organe majeur d'ammoniaque.

En suivant le métabolisme du squelette carboné des AA, certains d'entre eux (glutamine, histidine, arginine, ornithine et proline) sont convertis en L-glutamate pendant

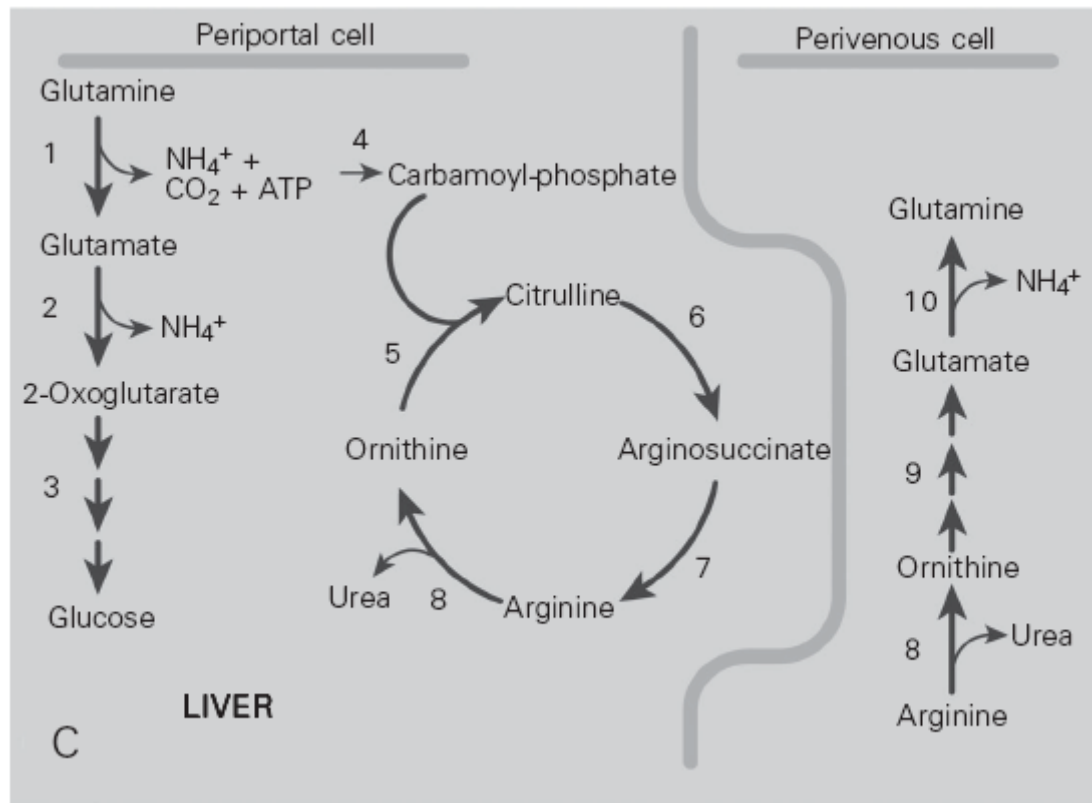


Figure 11 : Voies du métabolisme de la glutamine et du glutamate dans les cellules périportales et péricaveuses du foie. L'azote de la glutamine est dirigé pour la synthèse d'urée alors que le carbone est dirigé pour la synthèse de glucose dans les cellules périportales. En condition où l'arginine n'est pas en quantité limitante, la glutamine est synthétisée dans les cellules péricaveuses. 1, Glutaminase Phosphate-dépendante ; 2, glutamate déhydrogénase ; 3, enzymes de la gluconéogenèse ; 4, carbamoyl-phosphate synthétase ; 5, ornithine transcarbamoylase ; 6, argininosuccinate synthétase ; 7, argininosuccinase ; 8, arginase ; 9, enzymes de synthèse du glutamate ; 10, glutamine synthétase (Newsholme, Lima et al. 2003).

leur catabolisme. Parce que le L-glutamate est converti en α -cétoglutarate, chacun de ces AA peut être considéré comme anaplérotique ; c'est-à-dire qu'ils tendent à augmenter le nombre d'intermédiaires du cycle de Krebs. Cela requiert une réaction cataplérotique c'est-à-dire qu'une enzyme doit être présente pour métaboliser les intermédiaires à partir du cycle. Cela est généralement accompli par la phosphoénolpyruvate carboxykinase qui convertit l'oxaloacétate en phosphoénolpyruvate. Un devenir possible du phosphoénolpyruvate est d'être converti en pyruvate par la pyruvate kinase ou un autre devenir est son entrée dans la voie de la gluconéogenèse.

Pour résumer ce paragraphe, le L-glutamate qui a été produit dans les cellules périportales peut être métabolisé pour produire d'autres AA par transamination ou peut entrer dans le cycle de Krebs ou dans la voie de la gluconéogenèse via la formation de phosphoénolpyruvate à partir d'oxaloacétate. La gluconéogenèse à partir de glutamine pourrait représenter une consommation majeure des carbones dérivés du L-glutamate dans le foie caractérisé par sa capacité à synthétiser et exporter le glucose (de Souza, Borba-Murad et al. 2001).

3.2.2. Zonation hépatique et métabolisme du L-glutamate

Le concept de zonation au niveau du foie a été rapporté par Rappaport *et al.* en 1954 (Rappaport, Borowy et al. 1954). Ils divisent les lobules en 3 zones : la zone 1 étant la plus éloignée de la veine centrolobulaire et la zone 3 la plus proche. La terminologie peut être différente car les hépatocytes sont aussi appelés périportaux (proche de la zone 1) et périveineux ou péricentraux (proche de la zone 3). L'hétérogénéité du foie fournit un exemple de la manière dont un organe avec une morphologie apparemment simple et uniforme est structuré de manière à être capable d'exécuter simultanément une multitude de fonctions métaboliques complexes et nécessaires au maintien de l'homéostasie de la plupart des constituants du sang (Gebhardt, Baldysiak-Figiel et al. 2007). Les fonctions hépatiques sont donc compartimentées en fonction de leur situation périportale ou périveineuse.

Du fait de la zonation hépatique, le métabolisme du L-glutamate a une organisation particulière notamment pour l'élimination de l'ammoniaque. Le cycle de l'urée est retrouvé dans les zones 1 et 2 et dans la première portion de la zone 3 (Moorman, Vermeulen et al. 1989), tandis que la glutamine synthétase (figure 12) est retrouvée dans une sous-population d'hépatocytes (6% de la population d'hépatocytes totale) situé à la fin de la zone 3 autour de la veine centrolobulaire (Gebhardt and Mecke 1983). La formation et la libération de

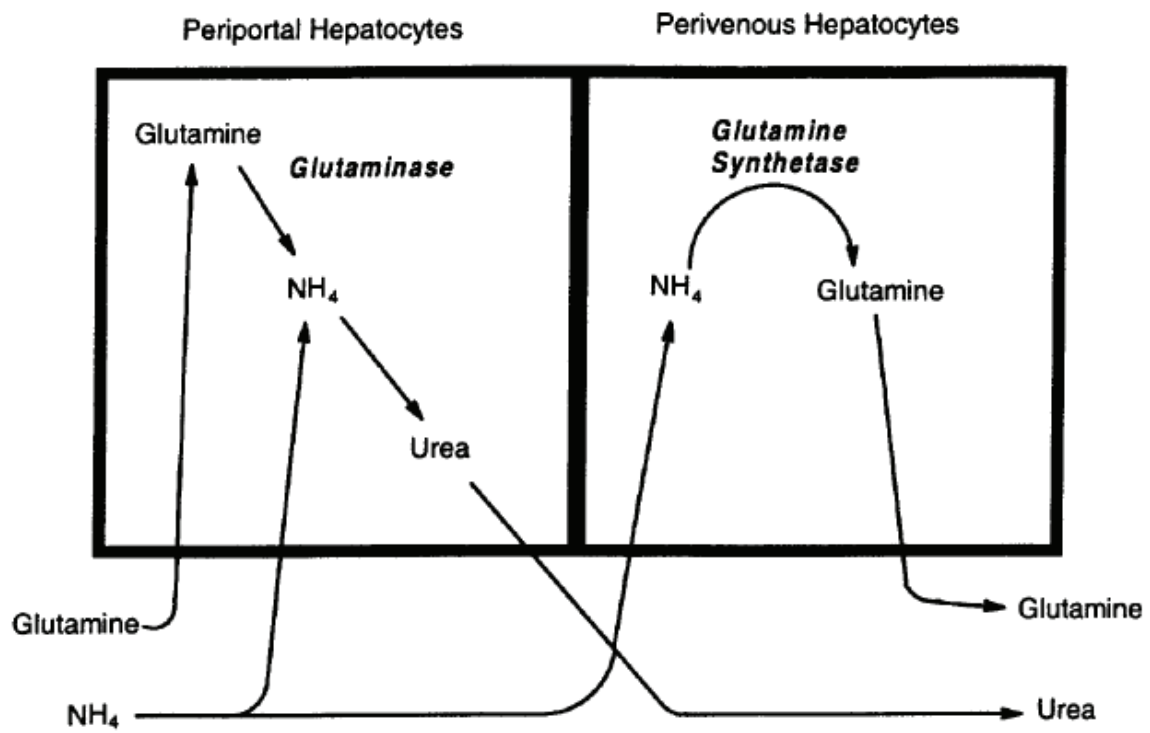


Figure 12 : Zonation hépatique de la glutaminase et de la glutamine synthétase (Brosnan 2003)

glutamine à partir du foie se produit donc principalement dans la région périveineuse. Il y a donc une localisation différente des deux systèmes impliqués dans l'élimination de l'ammoniaque. Haussinger et Gerok ont montré que lorsqu'une petite quantité d'ammoniaque était perfusée dans la direction antérograde, l'urée était le produit azoté dominant ; alors que lorsque la perfusion était dans la direction rétrograde une large quantité de glutamine était libérée correspondant à une diminution des concentrations d'urée (Haussinger 1983).

Pourtant, la localisation dans les acini de la NAG synthétase n'a pas encore été à ce jour précisément déterminée. La glutaminase hépatique, qui hydrolyse la glutamine en L-glutamate et ammoniaque jouerait un rôle dans l'approvisionnement en L-glutamate dans les mitochondries pour la synthèse de NAG (Brosnan and Brosnan 2002). Cette enzyme est essentiellement retrouvée dans la zone 1 (Moorman, de Boer et al. 1994). La glutamine est utilisée par les cellules périportales du foie dans lesquelles il y a une haute activité glutaminase. L'ammoniaque produit est ensuite dirigé vers la synthèse de carbamoyl phosphate (Curthoys and Watford 1995). Cette zonation de la synthèse de glutamine montre une coopération entre les différentes populations d'hépatocytes (Watford 1993).

En plus de la glutamine synthétase, la localisation de l'ornithine aminotransférase et de la glycoprotéine RhB (transporteur de l'ammonium) est limitée à la portion distale de la zone 3. Apparemment, ces cellules peuvent produire de la glutamine en absence de L-glutamate exogène.

Le rôle central de la glutamate déshydrogénase (GDH) est l'élimination de l'azote excédentaire et elle est au centre de la désamination des AA. Elle est impliquée dans le métabolisme du L-glutamate hépatique. L'oxydation du L-glutamate par la GDH n'est pas seulement hautement régulée mais sert aussi de fonction signal avec d'importantes implications pour le maintien de l'homéostasie (Stanley 2009). Cette enzyme a une haute activité dans le foie mais elle n'est pas uniformément distribuée dans les acini avec une activité augmentant des cellules périportales aux cellules périveineuses (Maly and Sasse 1991; Boon, Geerts et al. 1999).

La zonation hépatique du métabolisme de la glutamine et du glutamate présente un certain nombre d'avantages physiologiques. La localisation en série des 2 mécanismes d'utilisation de l'ammoniaque (cycle de l'urée et synthèse de glutamine) fournit un système sécurisé où un système haute capacité-faible affinité précède un système faible capacité-haute affinité (Haussinger, Sies et al. 1985) qui fournissent ensemble un système efficace pour l'élimination de l'ammoniaque. La glutaminase et la glutamine synthétase sont aussi physiquement séparées, ce qui permet une régulation individuelle. En effet, les hépatocytes

périportaux sont riches en glutaminase et en enzymes du cycle de l'urée alors qu'une petite sous population de cellules périveineuses contient la glutamine synthétase. Le catabolisme des AA de la famille du L-glutamate n'est pas localisé dans une seule zone des lobules. Bien que la localisation cellulaire du catabolisme de l'histidine et de la proline ne soit pas encore parfaitement connue, le catabolisme de la glutamine et de l'arginine-ornithine se fait dans des populations d'hépatocytes différentes (Brosnan and Brosnan 2009). Le foie exprime 15 000 gènes pour son métabolisme et sa fonction et seulement 100 gènes sont exprimés au niveau des lobules. De nouveaux travaux sont donc nécessaires pour progresser sur les conséquences métaboliques et physiologiques de la zonation hépatique.

3.3.Métabolisme et fonction du L-glutamate dans le muscle

Dans le muscle, le transport du L-glutamate est géré par un système X_{AG}^- de faible activité et de haute affinité (Rennie, Ahmed et al. 1996), le même système que dans l'intestin. Il a été montré que la protéine L-glutamate/aspartate transporter 1 (GLAST-1) était exprimé dans le muscle squelettique (Castagna, Shayakul et al. 1997).

Le muscle est probablement le plus important site de synthèse de glutamine (Lacey and Wilmore 1990) dans le corps et contient 90% du pool de glutamine du corps entier (Newsholme, Lima et al. 2003). Le L-glutamate fournit le squelette carboné nécessaire à la synthèse *de novo* de glutamine. Environ la moitié de la glutamine libérée par le muscle provient du L-glutamate prélevé dans le sang. Il a aussi un rôle dans la formation d'aspartate et d'alanine (Graham and MacLean 1998).

La haute corrélation entre les concentrations en L-glutamate et en glutathion dans le muscle suggère que le L-glutamate joue un rôle déterminant dans la voie de synthèse de glutathion (Rutten, Engelen et al. 2005).

Pendant un exercice modéré à intense, le L-glutamate joue un rôle central dans la provision d'énergie car le L-glutamate semble être un substrat clé pour l'augmentation rapide dans le muscle d'intermédiaires au cycle de Krebs (figure 13). La réaction suivante catalysée par l'alanine aminotransférase : $\text{L-glutamate} + \text{pyruvate} \rightarrow \text{alanine} + \text{2-oxoglutarate}$ (Gibala 2001) conduirait durant un exercice à une élévation de la libération d'ammoniaque, de glutamine et d'alanine (Mourtzakis and Graham 2002). Pendant un exercice prolongé, où les concentrations en glycogène dans le muscle sont réduites, un autre mécanisme se met en place (Van Hall, Saltin et al. 1999). Le prélèvement de groupes aminés à partir du muscle sous la forme de glutamine fournit une autre alternative pour la synthèse d'intermédiaires du cycle de

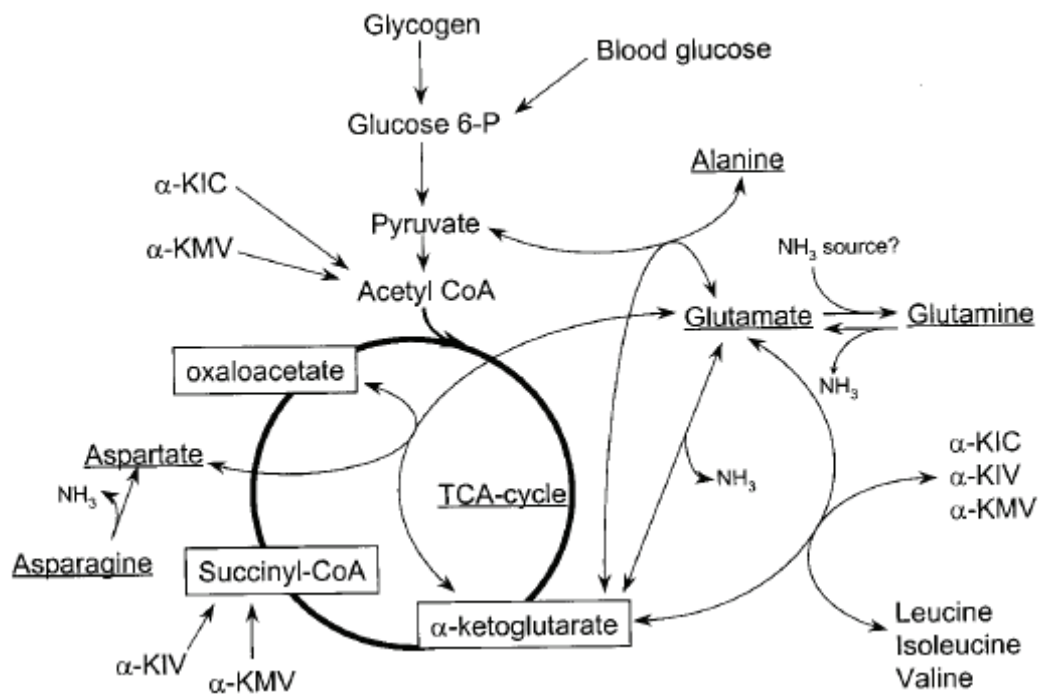


Figure 13 : Représentation schématique de l'interaction des acides aminés avec le cycle de Krebs ou tricarboxylique (TCA). Les acides de la leucine, de l'isoleucine et de la valine sont les acides α-oxoisocaproïc (α-KIC), α-oxométhylvaléric (α-KMV) et α-oxoisovaléric (α-KIV). Glucose 6-P : Glucose 6-Phosphate. (Van Hall, Saltin et al. 1999)

Krebs selon les réactions suivantes : 2 L-glutamate $\rightarrow$ glutamine + α -oxoglutarate ; valine + isoleucine $\rightarrow$ succinyl-CoA + glutamine ; aspartate + isoleucine $\rightarrow$ oxaloacétate + glutamine.

Durant un exercice prolongé, les AA ramifiés et le L-glutamate libérés par la dégradation des protéines du muscle et prélevés dans la circulation semblent être utilisés pour la synthèse d'intermédiaires du cycle de Krebs et de glutamine.

3.4. Concentration circulante en acide glutamique et en glutamine

3.4.1. Concentration en condition normale

Le transport inter-organes d'AA est très actif et ces flux fournissent les AA pour la synthèse de protéines (entre autres) associées à des fonctions spécifiques (Brosnan 2003). La concentration totale d'AA libres dans le plasma est de l'ordre de 2,5 mM avec la glutamine qui est retrouvée en plus grande quantité (Curthoys and Watford 1995). Il est intéressant d'évaluer les flux corporels d'acide glutamique et des AA associés chez l'Homme adulte. Le tableau 7 récapitule les données de flux circulant chez l'Homme et le porc mesuré lors d'une perfusion intraveineuse constante d'AA marqués (Bertolo and Burrin 2008). Chez l'Homme adulte, les flux circulants de glutamine sont plus élevés que ceux d'acide glutamique. En effet, l'acide glutamique est l'AA intracellulaire le plus abondant (concentration variant entre 2 et 20 mM) tandis que la L-glutamine est l'AA extracellulaire le plus abondant (0,7 mM) comparé à une concentration en acide glutamique approximative de 0,05 mM (Newsholme, Procopio et al. 2003). Le pool de glutamine plasmatique a un turnover rapide aux alentours de 900 à 1300 $\mu\text{mol.kg/h}$ chez le rat et 318 à 373 $\mu\text{mol.kg/h}$ chez l'Homme (Curthoys and Watford 1995).

Le tableau 8 indique les contenus en acide glutamique des principaux organes (Dillon 1991). Le muscle squelettique contient 75% du pool entier d'AA libres dans le corps et 25% des protéines (Graham, Sgro et al. 2000). L'acide glutamique, qui représente 20% des AA dans les protéines naturelles, est un des AA ayant la concentration la plus élevée dans le pool d'AA libres du muscle squelettique chez l'Homme (Rennie, Ahmed et al. 1996). Les teneurs en L-glutamate dans les tissus sont de manière générale plus élevées que celles en glutamine.

Pour résumer ce paragraphe, les muscles, malgré leur teneur élevée en acide glutamique, n'en libèrent que de faible quantité. Ils produisent essentiellement de la glutamine. La glutamine est utilisée ensuite par les organes (notamment l'intestin grêle et le gros intestin) pour leurs propres besoins métaboliques. Le foie produit également une certaine

Tableau 7 : Flux intraveineux de glutamate et glutamine (Bertolo and Burrin 2008)

$\mu\text{mol.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$	Adultes	Enfants	Jeunes porcs
Glutamine	234 – 393	423 – 791	934
Glutamate	83 - 131	1287 - 1900	1190

Tableau 8 : Quantité de glutamate libre en mg dans les principaux organes d'un adulte normal (70kg) (Dillon 1991)

Organes	Glutamate libre (mg)
Muscles	6 000
Cerveau	2 250
Rein	680
Foie	670
Plasma	40

quantité d'acide glutamique, en partie destinée aux besoins des tissus périphériques, dont les muscles. Mais les quantités de L-glutamate produites par le foie sont habituellement faibles.

Les flux splanchniques des AA représentent un pool accessible d'AA. Comme détaillé ci-dessus, le glutamate est le précurseur d'AA dans les entérocytes : alanine, aspartate, citrulline, proline et ornithine. Les AA non catabolisés et ceux produits par l'intestin peuvent ensuite être libérés dans la veine porte et utilisés par le foie. Les AA produits au départ du glutamate et utilisés par le foie sont les suivants : l'alanine pour produire du glucose grâce à la néoglucogenèse ; l'aspartate et l'ornithine peuvent être utilisés dans le cycle de l'urée. Une haute activité arginase dans le foie hydrolyse l'arginine en ornithine et en urée (Wu and Morris 1998). Les AA libérés dans la veine sus-hépatique sont utilisés par les organes et tissus périphériques. La citrulline n'est pas captée au niveau hépatique mais est utilisée pour synthétiser de l'arginine dans de nombreuses cellules : tubules du rein, cellules endothéliales et macrophages (Wu, Knabe et al. 1994). De fait, le rein capte la citrulline libérée par l'intestin pour synthétiser de l'arginine (Moinard and Cynober 2007; van de Poll, Siroen et al. 2007). Enfin, la proline est largement utilisée pour la synthèse des protéines endogènes au niveau de nombreux tissus (Wu, Bazer et al. 2010).

3.4.2. Concentration lors d'une supplémentation en MSG

Il a été montré que l'ingestion d'une large dose de MSG entraîne une augmentation mesurable des concentrations circulantes en acide glutamique.

Stegink *et al.* ont largement étudié les effets de l'ingestion de MSG sur les concentrations circulantes en AA chez le porc et l'Homme. En 1973, ils ont montré que l'administration de MSG à des porcs nouveau-nés n'altérait pas les concentrations intramusculaires d'aspartate, de L-glutamate, de glutamine et d'alanine et ont conclu que le foie était le site le plus important pour le métabolisme du L-glutamate (Stegink, Filer et al. 1973). L'organisme est protégé contre une augmentation des concentrations plasmatiques en acide glutamique excepté quand une très large dose de MSG est donnée. En effet chez un porc de 60kg, une hyperglutamatémie portale et artérielle transitoire a été observée quand l'alimentation est suppléementée avec 10 g de MSG (Blachier, Guihot-Joubrel et al. 1999). Ce résultat a été confirmé plus tard chez des petits porcs de 7kg (Janeczko, Stoll et al. 2007). Une très large dose de MSG peut excéder les capacités intestinales pour cataboliser cet AA.

Les études de l'ingestion ou de la perfusion de MSG chez l'Homme sont limitées. Stegink *et al.* ont effectué deux études chez l'Homme ingérant 150 mg/kgPC de MSG (9 g

pour une personne de 60 kg) et ceci a entraîné une augmentation transitoire significative des concentrations circulantes en acide glutamique (Stegink, Filer et al. 1983; Stegink, Filer et al. 1985). Dans une étude clinique, Thomassen *et al.* ont injecté un bolus de MSG à des patients avec des maladies coronaires et ont observé une augmentation transitoire (5 à 10min) de l'acide glutamique circulant (Thomassen, Nielsen et al. 1991). En 1999, Tsai *et al.* ont montré que l'ingestion de 100 mg/kg/j de MSG (6 g pour une personne de 60 kg) pris à 3 moments différents (petit déjeuner 15, déjeuner 40, et dîner 45 mg/kg) n'entraînait pas d'augmentation des concentrations circulantes en acide glutamique (Tsai and Huang 1999) mais une augmentation significative des concentrations circulantes de glutamine. Chez l'Homme adulte, les concentrations sanguines d'acide glutamique n'ont pas augmenté avec un gavage d'une dose de 30 mg/kgPC (1.8g pour une personne de 60 kg). En effet, une légère augmentation de la concentration plasmatique en acide glutamique a été observée avec un bolus de MSG de 150 mg/kgPC (9 g pour une personne de 60kg) (Bertolo and Burrin 2008). Les enfants sont aussi capables de métaboliser des concentrations similaires (rapportés à la masse corporelle) donnés dans des formules pour enfants ; et une étude récente chez des enfants prématurés a montré qu'une dose orale de L-glutamate de 3 fois la dose habituelle était complètement utilisée au premier passage par le métabolisme splanchnique (Hays, Ordonez et al. 2007).

Très peu d'études ont observé les effets d'une supplémentation en L-glutamate sur la concentration en L-glutamate dans les organes. Après ingestion d'une large dose de MSG (9g pour une personne de 60 kg) chez l'Homme, il y avait une augmentation des concentrations en glutamate dans le muscle (Graham, Sgro et al. 2000) ; ce qui suggère qu'un apport alimentaire en MSG pourrait influencer les concentrations de L-glutamate dans les muscles. Une injection locale d'une dose « pharmacologique » de MSG (0,2mL, 170mg/mL soit 34 mg) dans les muscles masséter (muscles de la mastication) pouvait induire une douleur intense, mais pendant une courte période chez des sujets sains (Svensson, Cairns et al. 2003; Cairns, Dong et al. 2007). Cependant dans ces études, les concentrations en L-glutamate, dans les muscles, après injection locale d'une dose élevée de MSG, ne pouvaient pas être considérées comme physiologiques et l'interprétation de ces résultats reste délicate. Donc, à l'heure actuelle, on ne connaît pas les changements minimaux de concentration en L-glutamate dans les tissus qui sont nécessaires pour induire un mécanisme de sensibilité dans les muscles squelettiques (Cairns, Dong et al. 2007).

4.EFFETS BENEFIQUES ET DELETERES DU MSG A DOSE NUTRITIONNELLE ET SUPRA-NUTRITIONNELLE

4.1.Le syndrome du restaurant chinois

Dans les années 60, le MSG a été impliqué dans le « syndrome du restaurant chinois » (SRC). En effet, une première lettre a été publiée en 1968, dans le *New England Journal of Medicine* par Kwok décrivant des symptômes récurrents après ingestion de MSG (Williams and Woessner 2009). Par la suite, six lettres ont suivi décrivant des symptômes similaires ou additionnels. En 1969, une première étude décrit qu'une consommation élevée de MSG est liée à des symptômes comme des céphalées, des bouffées de chaleur, des rougeurs, des difficultés à respirer, une pression faciale, des nausées et des palpitations, l'ensemble des symptômes étaient regroupées sous cette appellation : « syndrome du restaurant chinois » (Schaumburg, Byck et al. 1969). La réaction était dose-dépendante et le MSG avait été administré selon différentes méthodes : avec de la soupe, de l'eau et par administration intraveineuse. Cependant, l'interprétation de ces données a été remise en doute du fait que le test n'avait pas été fait en aveugle, que la signification statistique n'avait pas été démontrée et qu'il n'y avait que six sujets inclus dans l'étude. De plus, une administration intraveineuse ne reflète pas une ingestion normale.

Plusieurs études épidémiologiques ont été effectuées quant aux réactions à l'ingestion de MSG. Un questionnaire chez des patients hospitalisés a indiqué que la prévalence de personnes sensibles au SRC était de 25% (Reif-Lehrer 1977), mais cette étude présentait des biais méthodologiques. Kerr *et al.* à partir de questionnaires distribués dans une faculté de médecine ont rapporté qu'aucune des personnes interrogées n'avaient manifesté d'expériences de SRC (Kerr, Wu-Lee et al. 1977). En 1979, sur 3 222 répondants, seulement 1,8% des réponses pouvaient être considérées comme susceptibles de correspondre à un SRC et seulement 0,19% des répondants avaient effectivement ingéré de la nourriture asiatique (Kerr, Wu-Lee et al. 1979). A partir d'un questionnaire distribué en Thaïlande (pays fort consommateur de MSG), il n'a été montré aucune corrélation entre la SRC et l'apport en MSG (Geha, Beiser et al. 2000).

Par la suite, des études plus rigoureuses ont observé la possible association entre le MSG et le SRC et les résultats ont été assez variés. Trois études en double insu avec placebo publiées dans les années 70 chez des volontaires sains n'ont pas montré de différences de

symptômes après ingestion de MSG ou du placebo (Williams and Woessner 2009). Une autre étude en double insu avec placebo a identifié un certain nombre d'individus qui avait ressenti le SRC après ingestion de 3 à 5g de MSG, une quantité relativement importante mais plausible par rapport à la quantité de MSG ingérée dans une alimentation normale (Kenney and Tidball 1972). De plus, les individus ne devaient pas ingérer de nourriture 2h avant l'expérience et le MSG n'était accompagné d'aucun autre aliment. Ces résultats contrastent avec une autre étude en double insu de Tarasoff *et al.* où 71 sujets sains ont ingéré différentes doses de MSG (1,5 à 3,15 g/personne) contre placebo immédiatement avant un petit déjeuner standardisé (Tarasoff and Kelly 1993). Ils n'ont constaté aucun lien entre le MSG et le SRC. Une étude en double insu contre placebo a été menée chez 61 sujets identifiés comme sensibles au MSG (Yang, Drouin et al. 1997). Ces sujets ont ingéré un placebo ou 5g de MSG sur un estomac plein. Les auteurs ont observé une augmentation significative des symptômes associée au MSG dans le groupe MSG. En 2000, Geha *et al.* ont publié les résultats de leur étude en double insu contre placebo afin d'évaluer les réactions induites par le MSG chez 130 sujets identifiés comme sensibles à celui-ci (Geha, Beiser et al. 2000). Les auteurs ont conclu qu'il y avait une forte réponse à une dose élevée de MSG chez ces sujets par rapport au placebo mais la réponse n'était pas reproductible. Globalement, il n'a donc pas été observé de lien entre l'ingestion de MSG et le SRC chez des sujets sains. Par contre, chez des individus considérés comme sensibles aux MSG, il semble possible dans plusieurs études de déclencher un ou plusieurs symptômes caractéristiques du SRC (Geha, Beiser et al. 2000). De plus, de manière intéressante, certains symptômes du SRC ressemblent à ceux d'une allergie alimentaire provoquée par une libération d'histamine. De fait, quand le contenu en histamine est mesuré dans les plats proposés par la cuisine chinoise, certains d'entre eux contiennent des niveaux d'histamine proches des valeurs toxiques établies par la Food and Drug Administration (FDA) (Chin, Garriga et al. 1989) et il n'est donc pas exclu que certains symptômes du SRC soient dus à l'ingestion d'histamine dans des préparations culinaires mal conservées au froid.

Certaines études ont tenté d'expliquer l'origine du SRC. Ghadimi *et al.* en 1971, ont constaté que les symptômes du SRC étaient similaires à ceux liés à un syndrome cholinergique (Freeman 2006). Ils ont administré du MSG seul ou avec de l'atropine (qui bloque les effets de l'acétylcholine) et les sujets ayant reçu l'atropine ne présentaient pas les symptômes du SRC. Ces résultats suggèrent que les effets du MSG pourraient être arbitrés via l'acétylcholine. D'autres recherches ont proposé différentes théories quant à l'origine du SRC. Flokers *et al.* ont suggéré que les symptômes résultaient d'une déficience en vitamine B6

(Folkers, Shizukuishi et al. 1981). En effet, une supplémentation en vitamine B6 prévenait l'apparition des symptômes du SRC. Il convient toutefois de souligner que l'effectif de l'étude était faible et que le résultat de cette étude n'a pas été confirmé depuis. Une autre étude de Kenney *et al.* a proposé que les irritations au niveau de l'œsophage causées par le MSG étaient à l'origine des symptômes observés (Kenney 1986). Par contre, cette équipe n'explique pas que les symptômes soient aussi observés lorsque le MSG est ingéré dans une capsule.

En plus, de l'association entre MSG et SRC, le MSG a été considéré comme capable de causer ou exacerber certaines réactions incluant l'asthme, l'urticaire, la dermatite, des arythmies ventriculaires et des inconforts abdominaux. Un débat existe toujours à l'heure actuelle quant aux effets du MSG sur ces réactions et sur la prévalence de celles-ci. Par exemple dans le cas de l'asthme, le MSG a été impliqué, dans une étude en simple insu, comme agent susceptible d'augmenter les symptômes (Allen, Delohery et al. 1987) mais cette étude souffre de sévères défauts méthodologiques. En utilisant le même protocole, Manning et Stevenson n'ont pas été capable de confirmer une augmentation des réactions asthmatiques dues au MSG 12h après l'ingestion de celui-ci. En 1986 et 1987, des études en double insu n'ont pas non plus montré d'effets du MSG sur les fonctions respiratoires et les réactions asthmatiques (Simon 1986; Schwartzstein, Kelleher et al. 1987).

4.2. Le MSG et ses effets sur la prise alimentaire et l'obésité

Certaines études ont montré qu'une supplémentation en MSG pourrait augmenter la prise alimentaire et le gain de poids chez l'homme. Plusieurs études chez l'animal ont rapporté que le MSG pouvait induire un surpoids ou de l'obésité (Olney and Sharpe 1969; Dawson, Pellemounter et al. 1997). Mais ces études ont des protocoles expérimentaux utilisant soit des animaux injectés intrapéritonéalement avec du MSG, soit des animaux nouveau-nés traités avec une large dose de MSG. Les études chez le rat sont discutables à cause de la quantité extranutritionnelle de MSG utilisée et le mode d'administration utilisé. Une étude chez le chien d'une durée de 2 ans avec un apport jusqu'à 10% de MSG, n'a pas non plus révélé d'effets indésirables sur le gain de poids, le poids des organes et sur la mortalité (FAO/WHO 1971; FAO/WHO 1974). Une seule étude a trouvé un effet opposé du MSG. Dans cette étude, l'ingestion de MSG dissous dans l'eau de boisson a réduit le gain de poids, la masse grasse et les concentrations plasmatiques en leptine chez des rats en croissance (Kondoh and Torii 2008). Les auteurs ont conclu que ces changements sont

probablement liés à l'augmentation de la dépense énergétique car la prise alimentaire n'était pas modifiée par l'ingestion de MSG (Kondoh, Mallick et al. 2009). Les mécanismes d'action qui permettraient au MSG de favoriser l'obésité ne sont pas clairs mais il a été montré une activité lipolytique plus faible dans les adipocytes ainsi qu'une plus forte sensibilité à l'insuline dans le tissu adipeux d'animaux ayant reçu le MSG (Cheung, Lee et al. 1988; Hirata, Andrade et al. 1997; Macho, Fickova et al. 2000). Hermanussen *et al.* ont effectué de nombreuses études quant à la relation entre le MSG et l'obésité pour tenter d'en comprendre les mécanismes éventuels. En 2003, ils ont rapporté qu'une hyperglutamatémie chronique était à l'origine d'une intoxication des neurones du noyau arqué, ce qui, d'après ces auteurs, perturbait la cascade d'action de la leptine causant une hyperphagie, une obésité et une hyperleptinémie (Hermanussen and Tresguerres 2003; Hermanussen and Tresguerres 2003). Cet effet neurotoxique serait arbitré par les récepteurs NMDA (Hermanussen and Tresguerres 2005). Une dose largement extranutritionnelle (5g de MSG par jour chez des jeunes rats) entraîne une toxicité neuronale et a un effet sur la régulation de l'appétit (Hermanussen, Garcia et al. 2006).

Les études chez l'Homme sont peu nombreuses et controversées. Seulement deux études ont évalué les effets du MSG sur le gain de poids. Chez l'Homme, une administration orale d'une large dose de MSG (12,7 g) n'a pas affecté la sécrétion d'hormones pituitaires : prolactine, hormone lutéinisante, hormone de croissance, ... (Fernstrom 2000). A partir des données d'INTERMAP (International Study of Macro-/Micronutrients and Blood Pressure), une étude ayant quantifié l'apport en macro et micronutriment, He *et al.* ont estimé la quantité de MSG ajouté à la préparation de repas (He, Zhao et al. 2008). Ils ont examiné l'association entre l'apport en MSG et l'Indice de Masse Corporelle (IMC) chez des adultes chinois apparemment sains et d'âge moyen. Ils ont conclu qu'un apport en MSG était significativement corrélé à la prévalence de l'obésité indépendamment de l'activité physique et de l'apport énergétique total. Ces données expérimentales et cliniques restent contradictoires et le fait que l'ingestion orale de MSG affecte la régulation de l'appétit reste à être démontré (Beyreuther, Biesalski et al. 2007; Ebert 2009).

La perte du goût et de l'odorat peut entraîner une réduction de l'appétit et un apport alimentaire inadéquat, une situation fréquemment observée chez les personnes âgées (Beyreuther, Biesalski et al. 2007). Des traitements symptomatiques incluant l'intensification du goût et de l'odeur pourraient compenser en partie cette perte. Une des méthodes de traitement est l'utilisation d'exhausteur de goût dans les aliments. Plusieurs études ont montré que l'augmentation du goût et de l'odeur des aliments pouvait améliorer la palatabilité de

ceux-ci, augmenter la salivation et ainsi l'acceptation de la nourriture (Schiffman 2000). De tels effets ont été observés en particulier avec une supplémentation en MSG dans les aliments (Yamamoto, Tomoe et al. 2009). Celle-ci entraînait une augmentation de la consommation de certains aliments chez les personnes âgées. Par exemple, l'apport en énergie et nutriments a été mesuré chez des personnes âgées hospitalisées ($n=65$, moyenne d'âge 65 ans) recevant des aliments sans et avec MSG (0,6%) pendant 6 mois (Bellisle 1998). Bien que l'apport énergétique ne changeait pas, une consommation plus élevée en aliments contenant du MSG était observée par rapport à la consommation d'aliments sans MSG. Des résultats similaires ont été observés chez des patients diabétiques hospitalisés (Bellisle, Dalix et al. 1996). L'addition de MSG dans les aliments augmentait aussi la consommation alimentaire et améliorait le statut nutritionnel de 43 personnes âgées hospitalisées dont le poids corporel avait diminué suite à diverses pathologies (Schiffman 2000). Les mêmes effets ont été rapportés chez des personnes âgées en maison de retraite ayant été supplémentées en MSG pendant 4 mois (Mathey, Siebelink et al. 2001). Une étude en double insu contrôlée avec placebo chez des personnes âgées hospitalisées, montre qu'une supplémentation avec 0,5% (poids/poids) de MSG 3 fois par jour pendant 3 mois améliore le statut nutritionnel (Tomoe, Inoue et al. 2009). En se fondant sur ces résultats, les études d'évaluation sensorielle et de l'appétit chez l'Homme indiquent qu'une supplémentation appropriée en MSG dans l'alimentation chez les personnes âgées peut améliorer leur statut nutritionnel en augmentant la palatabilité des aliments et leur appétit.

4.3. Toxicité du L-glutamate

Le L-glutamate a une très faible toxicité aiguë dans des circonstances normales : la dose orale létale chez 50% (DL50) des rats et des souris lorsqu'elle est de 15 et 18 g/kgPC respectivement (FAO/WHO 1971; FAO/WHO 1974). Les études de toxicité subchronique et chronique avec une durée de 2 ans chez des souris et des rats, incluant une phase de reproduction, n'ont révélé aucun effet délétère à un niveau alimentaire jusqu'à 4%.

Il a été montré que la concentration de L-glutamate circulant chez le fœtus n'est pas modifiée en parallèle de la concentration maternelle. Par exemple chez des rats, une dose orale de 8 g/kg donnée à des femelles allaitantes entraîne une augmentation de la concentration de L-glutamate dans le plasma de la mère entre 100 et 1 650 $\mu\text{mol/L}$ sans augmentation significative au niveau plasmatique chez le fœtus. De manière similaire, chez des guenons rhésus allaitantes, une injection intraveineuse de 1 g de MSG entraîne une augmentation de 10

à 20 fois la concentration plasmatique de L-glutamate maternel sans changement de la concentration plasmatique fœtale (Walker and Lupien 2000).

4.4. Apport journalier acceptable en MSG

Le MSG est actuellement considéré pour être sans effets délétères pour la santé, à des doses nutritionnelles. Depuis les années 70, plusieurs comités d'experts se sont réunis afin d'évaluer la toxicité du L-glutamate et/ou du MSG. En effet, l'évaluation sanitaire du MSG par le comité d'experts FAO/WHO sur les additifs alimentaires (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives JECFA) a été effectuée sur les différents sels, c'est-à-dire, l'acide L-glutamique et ses sels d'ammonium, de calcium, de sodium et de potassium. Ces additifs alimentaires ont d'abord été évalués en 1971 et 1974 (FAO/WHO 1971; FAO/WHO 1974). Après ces évaluations, un apport journalier acceptable (AJA) a été fixé entre 0 et 120mg/kg de poids corporel. Une plus récente évaluation a été menée en 1987 par le même comité d'expert (Walker and Lupien 2000). Par la suite, le JEFCA a conclu qu'il n'était pas nécessaire de spécifier un AJA pour l'acide L-glutamique et ses sels.

Le comité scientifique pour les aliments de la commission des communautés européennes (Scientific Committee for Food of the Commission of the European Communities SCF) a révisé ces données en 1991 et a donné des conclusions similaires à celles obtenues par le JEFCA (SCF 1991).

Par la suite, la fédération des sociétés américaines pour la biologie expérimentale (Federation of American Societies for Experimental Biology FASEB) a publié une revue des réactions négatives attribuées au MSG en 1995 (FASEB 1995). L'administration américaine des aliments et des drogues (Food and Drug Administration FDA) a interprété les conclusions du rapport de la FASEB en disant qu'elles étaient cohérentes avec les évaluations des autres organisations (JECFA et SCF). Le MSG pouvait être ingéré en toute sécurité à des taux normalement consommés par la population générale et il n'y a aucun lien évident entre le MSG et les problèmes de santé de la population générale.

Mais il faut prendre en compte que certaines personnes ont une sensibilité plus élevée au MSG que la sensibilité moyenne d'une population donnée. C'est pourquoi des études supplémentaires chez l'Homme et l'animal sont nécessaires pour observer les effets métaboliques et physiologiques du MSG en particulier lors de consommation à moyen et à long terme.

4.5. Sensibilité individuelle au MSG

Il est connu que le goût d'un aliment ou d'une substance peut être ressenti de manière très différente d'un individu à l'autre. Il y a d'une part une composante culturelle : expérience individuelle, environnement social, ... Mais il y a aussi une composante génétique pour la préférence au goût (Krebs 2009). En effet, il existe des exemples de diversité de séquences dans les gènes de récepteurs au goût qui peuvent influencer la perception du goût chez les rongeurs et les Hommes. Par exemple la préférence du goût sucré des souris diffère en fonction de la souche (Fuller 1974). Chez l'Homme, le meilleur exemple est la sensibilité au goût amer du propylthiouracile et du phénylthiocarbamide qui est associé à la présence d'un gène codant pour un récepteur du goût : TAS2R38 (taste receptor type 2, member 38) (Bufe, Breslin et al. 2005).

La perception du goût chez l'Homme peut être étudiée avec des méthodes psychophysiques développées il y a plusieurs années (Bellisle 1998). Les seuils de détection, de reconnaissance et de perception d'intensité peuvent être mesurés en demandant aux individus de rapporter ce qu'ils perçoivent après l'application d'un stimulus connu. Les propriétés organoleptiques des substances « umami » ont largement été étudiées.

En effet chez l'Homme, comme chez le souris, il ya des variations de perceptions du goût umami (Shigemura, Shirosaki et al. 2009). Une perte du goût pour le MSG a été rapportée chez l'Homme. Lugaz *et al.* ont rapporté que certaines personnes ne pouvaient pas détecter le goût du MSG (Lugaz, Pillias et al. 2002). Dans cette étude, la distribution des points représentant la détection individuelle du MSG était sous forme de courbe bimodale. Trois catégories de personnes étaient représentées : 81% détectaient une faible quantité de MSG (0,08 mmol/L en moyenne), 10% une forte quantité de MSG (0,39 mmol/L) et 3,5% étaient incapables de détecter le goût umami. Une étude de Chen *et al.* a confirmé que 7% des sujets sont incapables de distinguer 29 mmol/L de MSG par rapport à la même concentration de NaCl (figure 14), ce qui suggère une sévère dysfonction de la perception du goût umami (Chen, Alarcon et al. 2009). Raliou *et al.* ont évalué la capacité individuelle des sujets à différencier le MSG du NaCl sur des paramètres d'intensité et de qualité du goût ainsi que la préférence de chacun (Raliou, Wiencis et al. 2009). Sur 142 sujets, 94 percevaient le goût du MSG parmi lesquels 70 n'aimaient pas ce goût et 24 l'aimaient. Vingt sept sujets ne percevaient pas le goût du MSG parmi lesquels 9 sujets confondaient ce goût avec le goût du NaCl. Quatorze sujets trouvaient que le NaCl avait un goût plus salé que le MSG et 4 sujets

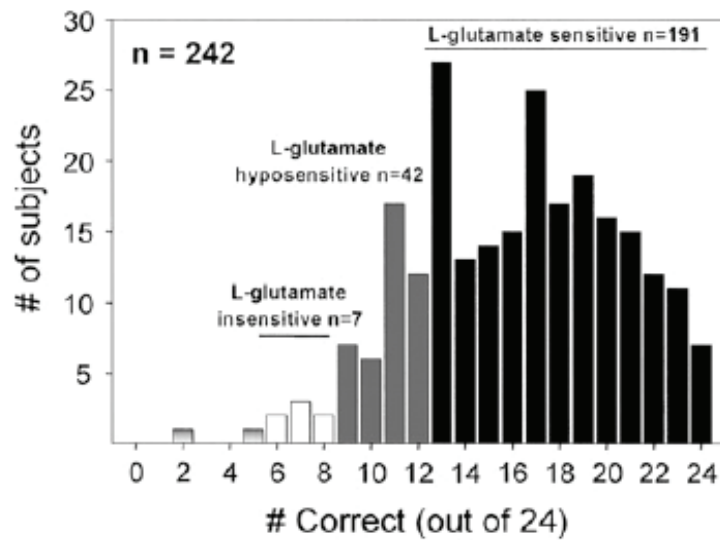


Figure 14 : Variation de sensibilité au goût du L-glutamate chez l'Homme. 29 mmol de MSG /L ont été testés contre la même concentration de chlorure de sodium (NaCl). Les barres blanches indiquent les sujets insensibles au L-glutamate. Les barres grises indiquent les sujets peu sensibles au L-glutamate et les barres noires, les sujets qui peuvent significativement distinguer le goût du L-glutamate du NaCl. (Chen, Alarcon et al. 2009)

trouvaient le MSG plus salé que le NaCl. Enfin, 21 sujets pouvaient discriminer le goût du MSG du NaCl à la limite des critères statistiques habituels.

La perception du goût « umami » est aussi variable en fonction de la zone géographique et du type de population. En effet, il a été montré que les sujets japonais percevaient significativement mieux le goût umami en solution que les américains (Ishii, Yamaguchi et al. 1992). De plus, le seuil de détection du glutamate est plus élevé chez les personnes âgées (moyenne d'âge 87 ans) par rapport à des jeunes individus (moyenne d'âge 26 ans) (Schiffman, Frey et al. 1991). Il apparaît être 2,8 fois plus élevée chez les personnes âgées par rapport à des jeunes (Schiffman, Sattely-Miller et al. 1994).

La perception du goût umami a donc une composante culturelle. Très peu de choses sont connues quant à la base génétique pour la perception du goût umami et ce point reste peu étudié (Shigemura, Shirosaki et al. 2009).

III. TRAVAUX PERSONNELS

1. HYPOTHESES ET OBJECTIFS DU TRAVAIL

Le MSG est un exhausteur de goût largement utilisé par les industries agro-alimentaires et pour la préparation de plats « faits maison » plus particulièrement dans les pays asiatiques. Les données bibliographiques rapportent des résultats qui suggèrent que le L-glutamate et/ou le MSG pourraient être impliqués dans certaines fonctions physiologiques de par la présence de nombreux récepteurs au niveau périphérique notamment au niveau gastro-intestinal.

En se basant sur ce contexte scientifique, l'hypothèse de travail de ma thèse est que le MSG utilisé en supplémentation pourrait exercer des effets métaboliques et physiologiques notamment aux niveaux gastrointestinal et pancréatique.

Afin de répondre à ces questions, différentes études ont été réalisées dans deux situations expérimentales types : chez le rat et chez l'Homme. Afin de justifier le choix des modèles expérimentaux, il faut prendre en compte les avantages et inconvénients de ces deux modèles. Les études chez l'Homme sont les études bien entendu les plus valorisées. Cependant, pour des raisons d'éthiques évidentes, les expérimentations chez l'Homme ne permettent d'avoir accès qu'à un nombre très limité de paramètres. Ces études sont très réglementées (protocole de recherche validé par le comité de protection des personnes, signature du formulaire de consentement éclairé par chaque participant), longues et onéreuses. Contrairement aux expériences chez l'Homme, les considérations scientifiques font des modèles animaux les meilleurs modèles d'étude d'un phénomène biologique. Le rat est un modèle expérimental largement utilisé car il est de petite taille et facile à manipuler. Son élevage et son hébergement sont relativement faciles et le coût reste très raisonnable. De plus, le modèle rat permet de faire des grands groupes avec des effectifs conséquents et d'avoir accès facilement aux différents organes et tissus. Les variables peuvent être contrôlées et les données accumulées dans un relativement court laps de temps. Nous avons choisi d'utiliser ces deux modèles finalement assez complémentaires car permettant de mesurer des paramètres différents. Les relations continues entre rats et hommes reflètent une réalité commensale sous-jacente. Les rats sont omnivores et leur métabolisme et leur physiologie présentent des points communs avec ceux des êtres humains.

Nous avons voulu évaluer les conséquences d'une ingestion aiguë ou d'une supplémentation chronique en MSG sur différents paramètres : la prise alimentaire et le gain de poids, les concentrations en AA (dans les tissus, le plasma, les contenus gastro-intestinaux et les urines), la physiologie et les fonctions gastro-intestinales (vidange gastrique, transit intestinal et oro-fécal, incorporation de l'azote alimentaire dans les contenus gastro-

intestinaux), les sécrétions pancréatiques endocrines (concentrations plasmatiques en insuline et glucagon) et exocrines (activité protéase et contenus en peptides) et le métabolisme protéique (incorporation de l'azote alimentaire dans les différents pools d'azote accessibles, taux de synthèse protéique, dégradation protéique, contenus en protéines). Les effets sur le métabolisme du glutamate ont aussi été déterminés : activité enzymatique de la glutaminase (production de glutamate) et la glutamine synthétase (utilisation du glutamate) dans l'intestin, le foie et les muscles, mesure de l'expression des gènes de ces deux enzymes.

Chez le rat, nous avons évalué l'effet d'une dose supranutritionnelle de MSG afin d'observer les effets potentiellement délétères du MSG en tenant compte des données bibliographiques disponibles. Chez l'Homme, une dose nutritionnelle a été testée afin de se placer dans une situation plausible de consommation alimentaire.

2. ARTICLES

2.1. Article 1 : Effets d'une supplémentation en monosodium glutamate sur le métabolisme de la glutamine chez le rat adulte

2.1.1. Résumé de l'étude

Objectifs

Mesurer les effets d'une supplémentation en MSG administré physiologiquement chez des rats sains recevant du MSG pour la première fois (effet aigu) ou après 2 semaines d'adaptation (effet chronique).

Il est important de rappeler que la plupart des études sur les effets du MSG dans les modèles animaux ont été réalisées avec des modes d'administration non physiologiques (intraveineuse, sous cutanée, ...). Le principal but de cette étude était de mettre en évidence les effets du MSG au niveau gastro-intestinal et pancréatique. L'étude de la composition corporelle a été effectuée du fait de l'hétérogénéité des résultats obtenus étudiant les effets du MSG sur l'obésité. Les concentrations dans les contenus gastro-intestinaux ont été mesurées car aucune donnée à ce sujet n'a été publiée auparavant sur cet important paramètre biologique. La vitesse de vidange gastrique a été déterminée du fait de la présence de récepteurs au glutamate dans l'estomac ou cet acide aminé pourrait agir directement avant la digestion des protéines. C'est un déterminant majeur de la mise à disposition des nutriments, c'est pourquoi l'incorporation de l'azote alimentaire et le métabolisme protéique postprandial ont été étudiés. Le glutamate étant impliqué dans la synthèse de certains AA, la détermination

des concentrations circulantes en AA était importante. Enfin, la glutamine et le glutamate ayant un métabolisme commun, les activités des enzymes relatives au métabolisme de ces AA ont été mesurées.

Matériels et méthodes

76 rats Wistar mâles ont reçu une supplémentation en MSG à hauteur de 2% (2g pour 100 g d'aliment solide) pour la première fois (effet aigu) ou après 2 semaines d'adaptation (effet chronique). Les rats ont été euthanasiés 1h, 2h et 5h après l'ingestion du repas test. Une partie des rats a reçu une injection de ^{13}C valine par la méthode de la « flooding dose » pour déterminer les taux de synthèse protéique et l'autre partie a ingéré des protéines de lait marquées au ^{15}N afin de suivre le devenir de l'azote alimentaire. Ces derniers ont aussi ingéré du ^{13}C acétate de sodium afin de mesurer l'enrichissement en $^{13}\text{CO}_2$ dans les gaz expirés et déterminer la vitesse de vidange gastrique. De nombreux paramètres ont été, de plus, mesurés dans cette étude : physiologie gastro-intestinale (transit oro-fécal et intestinal), métabolisme de la glutamine dans certains tissus (activité enzymatique et expression des gènes), suivi du devenir du glutamate dans les contenus gastro-intestinaux, le plasma et les urines, influence du MSG sur les concentrations circulantes en AA, effets sécrétagogue du MSG (insuline et glucagon).

Principaux résultats obtenus

Il a été montré qu'une supplémentation en MSG augmentait significativement les concentrations en glutamate dans les contenus stomacaux pendant 5h et intestinaux pendant 1h. Ces augmentations étaient associées à une augmentation des concentrations circulantes de glutamine expliquée par une diminution significative de l'activité glutaminase intestinale. Une augmentation transitoire des concentrations plasmatiques en insuline était observée 1h après le repas.

Une supplémentation aiguë ou chronique en MSG n'a pas eu d'effet sur la prise alimentaire, le gain de poids, la masse des tissus adipeux, la vidange gastrique, l'incorporation de l'azote alimentaire et la synthèse protéique.

Conclusion

Cette étude a montré qu'une supplémentation chronique en MSG augmentait la concentration circulante de glutamine mais avait peu d'effets sur les fonctions physiologiques examinées.

2.1.2. Article 1

Effects of monosodium glutamate supplementation on glutamine metabolism in adult rats

Claire Boutry^{1,2}, Cecile Bos^{1,2}, Hideki Matsumoto³, Patrick Even^{1,2}, Dalila Azzout-Marniche^{1,2}, Daniel Tome^{1,2} and François Blachier^{1,2}

¹ INRA, CNRH-IdF, UMR 914 Nutrition Physiology and Ingestive Behavior, F-75005 Paris, France, ²AgroParisTech, CNRH-IdF, UMR 914 Nutrition Physiology and Ingestive Behavior, F-75005 Paris, France, ³AJINOMOTO Company, Institute of Life Sciences, Amino Acid Basic and Applied Research Group, Ajinomoto Co., Inc, Kawasaki 210-8681, Japan

TABLE OF CONTENTS

1. Abstract
2. Introduction
3. Materials and methods
 - 3.1. Animals and diets
 - 3.2. Experimental protocol
 - 3.3. Determination of protein synthesis rate in tissues
 - 3.4. Determination of oro-fecal transit time and gastric emptying rate
 - 3.5. Determination of glutaminase and glutamine synthetase activity in tissues
 - 3.6. Measurement of gene expression of glutaminase and glutamine synthetase activity
 - 3.7. Protease activity and peptide contents
 - 3.8. Assessment of the postprandial kinetics of dietary N
 - 3.9. Hormones, glucose and amino acid concentrations
 - 3.10. Statistics
4. Results
 - 4.1. Food intake, body weight and body composition
 - 4.2. Gastro-intestinal transit and luminal intestinal proteases activity
 - 4.3. Amino acid and enzymes related to glutamine metabolism
 - 4.4. Dietary and whole body protein metabolism
 - 4.5. Glucose and insulin
5. Discussion
6. Acknowledgment
7. References

1. ABSTRACT

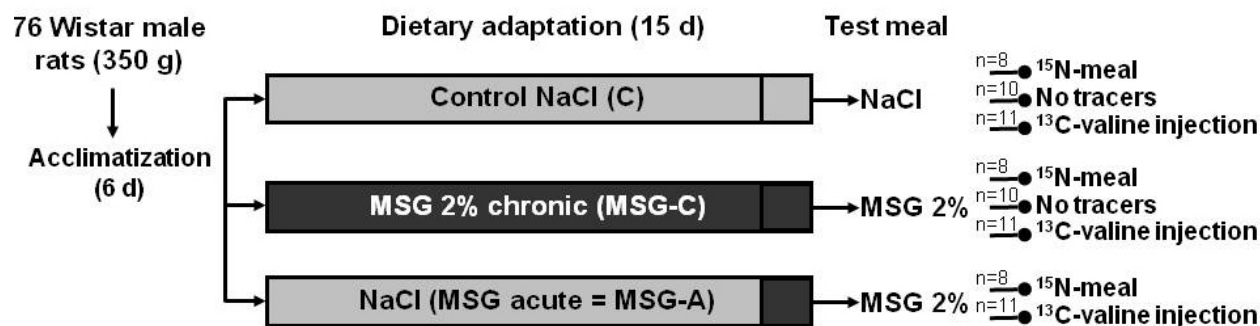
Monosodium glutamate (MSG) is a worldwide used flavor enhancer. Supplemental glutamate may impact physiological functions. The aim of this study was to document the metabolic and physiological consequences of supplementation with 2% MSG (w/w) in rats. After 15 days-supplementation and following the ingestion of a test meal containing 2% MSG, glutamic acid accumulated for 5h in the stomach and for 1h in the small intestine. This coincided with a significant decrease of intestinal glutaminase activity, a marked specific increase in plasma glutamine concentration and a transient increase of plasma insulin concentration. MSG after chronic or acute supplementation had no effect on food intake, body weight, adipose tissue masses, gastric emptying rate, incorporation of dietary nitrogen in gastrointestinal and other tissues, and protein synthesis in intestinal mucosa, liver and muscles. The only significant effects of chronic supplementation were a slightly diminished gastrocnemius muscle mass, increased protein mass in intestinal mucosa and decreased protein synthesis in stomach. It is concluded that MSG chronic supplementation promotes glutamine synthesis in the body but has little effect on the physiological functions examined.

2. INTRODUCTION

Monosodium glutamate (MSG), the sodium salt of glutamic acid, is a worldwide used flavor enhancer. The consumption of this compound has increased 3 times between 1979 and 2001 in human (1). Then it appears mandatory to document the consequences of MSG consumption in terms of beneficial over deleterious effects of this compound. Some animal studies have reported that MSG is able to induce overweight and/or obesity (2, 3) but mechanisms which would be responsible for such an effect remain unclear. Different physiological effects of glutamate on the gastro-intestinal tract and on the endocrine and exocrine pancreas have been reported. Some of them are believed to occur through binding to receptors which are present in numerous cell types. Glutamate is well known to represent the predominant excitatory neurotransmitter in the central nervous system (4) and appears to also act as a peripheral neurotransmitter. Indeed, mGluR1 glutamate receptors are present in the fundic gland of stomach (5), N-methyl-D-aspartate (NMDA) glutamate receptors have been identified in the myenteric plexus of the ileum (6-8) and mGluR2/3 glutamate receptors have been characterized in the enteric nervous system between muscularis mucosa and the circular muscular layer (9).

Table 1. Composition of the experimental diets based on NaCl (C) or MSG (MSG)

	C	MSG
MSG (g/100g dry matter)	0	2
NaCl (g/100g dry matter)	0.87	0
Total Milk protein (g/kg)	140	140
Starch (g/kg)	538.1	538.1
Sucrose (g/kg)	87.6	87.6
Cellulose (g/kg)	50	50
Soy oil (g/kg)	137	137
Minerals (AIN-93M) (g/kg)	35	35
Vitamins (AIN-93M) (g/kg)	10	10
Choline (g/kg)	2.3	2.3
Total protein (% of energy)	15	15
Total carbohydrates (% of energy)	55	55
Total fat (% of energy)	30	30
Metabolizable energy (kJ/g)	16.8	16.8

**Figure 1.** Experimental design

Glutamate was shown to induce tonic contractions of rat fundus (10), to elicit contraction of longitudinal muscle in ileum (8, 11) and to increase pancreatic flow and protein output from exocrine pancreas (12, 13). The effect of glutamate as a stimulator of insulin secretion is much controversial and have been highly debated (14). In conscious rats, the intragastric administration of glutamate at 200 mg/kg elicited a transient insulin response in the fed state but had no effect in the fasted state (15); and the infusion of the oral cavity with MSG was found to transiently increase blood insulin level (16).

From a metabolic point of view, glutamate is oxidized, converted to other amino acids or used as precursor for the synthesis of different bioactive compounds (17-21) and oxidation in the small intestine absorbing epithelial cells (enterocytes) appears to represent the main metabolic fate of glutamate during its transcellular journey from lumen to blood (22). As a consequence, the quantity of glutamate appearing in the portal blood is usually very low with normal or moderately high level of dietary glutamate and is more likely originating from glutamine catabolism through the action of intestinal glutaminase than from the absorption of dietary glutamate itself (17). In healthy human volunteers, nearly all of the enterally delivered glutamate is removed by the splanchnic bed on the first pass (23). A transient portal and arterial hyperglutatememia was however observed in pig fed a diet supplemented with very high quantity of MSG (24).

In that overall context, the aim of the present study was to determine the consequences of MSG

supplementation on the kinetics of luminal concentration of glutamate in the gastro-intestinal tract, on the body composition, on gastrointestinal and pancreatic functions, on the plasma aminoacidemia and on the postprandial protein metabolism in rats receiving MSG for the first time (acute conditions) or after a 2-wk adaptation (chronic conditions).

3. MATERIALS AND METHODS

3.1. Animals and diets

Experiments were carried out in accordance with the guidelines of the French Committee for Animal Care and the European Convention on Vertebrate Animals Used for Experimentation. Wistar male rats (Harlan, Horst, The Netherlands) weighing 325-350 g at the beginning of the experiment, were housed with a 12:12-h light-dark cycle (light 8:00 PM-8:00 AM). They were fed a standard chow diet for 6 days before starting dietary adaptations. Then rats were randomly assigned to one of three groups (Figure 1). Each group received for 15 days a normoenergetic diet (INRA, Jouy en Josas, France) providing 15% of energy as protein, 30% as fat and 55% as carbohydrate (Table 1). The diets only differed by the MSG concentration: 0 or 2% w/w (Ajinomoto Co., LTD, Tokyo, Japan). For control group (C), an isosodic amount of sodium chloride (NaCl) was added to the food. Supplemental MSG in diet adds 7% more nitrogen than in the control group (only NaCl) i.e. a modest relative increase. One of the three groups received the MSG supplemented diet only on the last day to test the acute effect of MSG supplementation (Figure 1). All diets were moistened (powdered diet/water: 1:2) to prevent spillage. A feeding pattern, designed to accustom the rats to

Effect of monosodium glutamate supplementation

eat in a short time a standard meal, was applied: a first meal (6 g dry matter) was given between 08:00 and 09:00h and then removed. Rats had then ad libitum access to food between 13:00 and 17:00h.

3.2. Experimental protocol

The rats were euthanatized with sodium pentobarbital (50 mg/kg BW) (Sanofi Synthelabo Santé Animale, Libourne, France) 1h, 2h or 5h after ingestion of the test-meal. Within each of the three groups, a subgroup of rats served to measure the fed-state tissue protein synthesis rates. Another subgroup of rats were given a ^{15}N -labeled protein meal in order to determine the postprandial fate of dietary N and ^{13}C -sodium acetate supplementation (10 mg per rat) to determine gastric emptying rate by the recovery of ^{13}C in expired breath, as described below. Blood was collected from the vena cava and samples were centrifuged to recover plasma.

3.3. Determination of protein synthesis rate in tissues

Tissue synthesis rates were assessed using the flooding dose method. Rats were injected subcutaneously with 300 $\mu\text{mol/kg}$ BW of a flooding dose of L-[1- ^{13}C]-valine (50 mol %, Cambridge Isotope Laboratories, Andover, MA, USA) 20 minutes before the organ collection following the method described by Mosoni et al. (25). Tissues were promptly removed, rinsed, weighed and frozen for further analysis. The ^{13}C -valine enrichment in free and protein-bound amino acids of tissues was measured by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) (Hewlett-Packard 6890 N) and by gas chromatography combustion isotopic ratio mass spectrometry (GC-C-IRMS) (HP5890/Isoprime, VG Instruments, Manchester, UK) using a 50 m apolar column (HP5MS, Hewlett-Packard) after sample preparation as previously described (26). Fractional synthesis rates (FSR, %/d) of tissue proteins were calculated as $\text{FSR} = E_{\text{bound val}} / (E_{\text{free val}} \times t) \times 100$ where $E_{\text{bound val}}$ and $E_{\text{free val}}$ are protein-bound and free ^{13}C -valine enrichments in tissues. Absolute synthesis rates (ASR, in g protein per day : gP/d) were calculated as $\text{ASR} = \text{FSR} \times P$ where P is the tissue total protein content.

3.4. Determination of oro-fecal transit time and gastric emptying rate

The oro-fecal transit time was measured in each rat according to the Evans blue (Sigma) method. Rats received immediately before the test meal, a 3-g meal colored with Evans blue. Oro-fecal transit time was calculated as the time between meal ingestion and apparition of blue color in feces. The same protocol was used to determine the progression of the meal in intestine. Gastric emptying rate was measured after ingestion of ^{13}C -sodium acetate within the meal, by collecting expired breath every 20 min for 5 hours. The rats were housed in air-proof cages linked to an open-circuit flow-through calorimetric device (27). A fifth cage was maintained empty to serve as zero control. Air from each cage was sampled in turn to oxygen (Siemens) and carbon dioxide (Maihak) gas analyzers. The ^{13}C enrichment of CO_2 in breath was determined using gas chromatography-isotope-ratio mass spectrometry (Multiflow/Isoprime, Micromass). The digestive and nitrogen metabolic fate of dietary N in

tissues and urea was assessed in the rats undergoing expired breath monitoring. Rats were anesthetized 5h after the ingestion of the ^{15}N -labeled meals which were identical to the one described above except that milk proteins were uniformly ^{15}N -labeled. The urine was collected throughout the postprandial period. The gastrointestinal tract was removed and the contents of the stomach, small intestine, colon and cecum were collected. The intestinal mucosa, stomach, liver, kidneys, and gastrocnemius muscle were promptly removed, rinsed, weighed and frozen until for analysis.

3.5. Determination of glutaminase and glutamine synthetase activity in tissues

Glutamine synthetase activity was determined in rat tissues according to Minet et al., 1997 (28). Briefly, this method uses the capacity of glutamine synthetase to convert L-glutamine into gamma-glutamyl-hydroxamate. After mixing tissues with imidazole buffer (50 mM pH 6.8) and sonication (3 times, 10 sec at 4°C), supernatants were collected after centrifugation (4500 g, 15min). The supernatants were incubated 10 min at 37°C with or without L-glutamine (50mM) in the presence of hydroxylamine 25 mM, sodium arsenate 25 mM, MnCl_2 2 mM and ADP 0.16 mM. Enzymatic reaction was stopped with a MIX-Stop solution (FeCl_3 2.42 % in weight, TCA 1.45 % in weight and HCl 1.82 N). After centrifugation (4500 g, 15 min), γ -glutamyl-hydroxamate was read at 540 nm against a gamma-glutamyl-hydroxamate standard curve performed in exactly the same conditions than the experimental samples.

Glutaminase activity in intestinal mucosa was measured in a phosphate 150 mM - Tris 50 mM buffer containing EDTA 1mM and Triton X100 0.05% (pH 8.0) after homogenization by sonication, pre-incubation of the homogenates for 20 min at 37°C and 5 min incubation at 37°C with L-glutamine (30 mM) or without L-glutamine (blank value). For glutaminase activity measurement in liver homogenate, 2 mM NH_4Cl was added to the incubation medium. The reaction was stopped with HCl 2 N and the pH was adjusted to 8.0. After centrifugation (10 min, 12000 g), aliquotes of the supernatants were incubated for 30 min at room temperature in the presence of glutamate dehydrogenase (1.3U) dissolved in a Tris 50 mM buffer solution (pH 8.0) containing 15 mM NAD, 1.25 mM ADP, 10 mM EDTA, 25 % (v/v) hydrazine (pH 8.0). The NADH formed in the reaction was read at 340 nm and the quantity of L-glutamate formed was determined using a L-glutamate standard curve obtained in exactly the same conditions that for the experimental samples.

3.6. Measurement of gene expression of glutaminase and glutamine synthetase activity

After extraction and quantification of total RNA, synthesis of first strand complementary DNA (cDNA), real time PCR was carried out as previously described (29). Sequence of PCR primers used were: 5'-GAAGGGCTACGCTGCAAGAC-3' (up) and 5'-TTCCACTCGGGTAACCTTTCTACA-3' (down) for glutamine synthetase (NM-017073-3), 5'-CGACTTGGTGACCTGCTTTTCT-3' (up) and 5'-TTCAGGGCCGTGGTGAAC-3' (down) for hepatic

Effect of monosodium glutamate supplementation

glutaminase (NM-138904-1) and 5'-ACCGCCATTAGCCAAGGTT-3' (up), 5'-CACAGACATGGTTGGGATACTAGATT-3' (down) for renal glutaminase (NM-012569-2) and 5'-CGGAAGGGCACCACAGGAG-3' and 5'-CACCACCACCCACGGAAACG-3' for 18S. Gene expression was determined using $2^{-\Delta C_t}$ formula where 2 represent an optimum efficiency of the PCR and $\Delta C_t = C_{t\text{target gene}} - C_{t18S}$. PCR efficiency was determined in each plate using a serial dilution of reverse transcribed RNA.

3.7. Protease activity and peptides contents

Protease activities and peptide contents in the small intestine luminal fluid were assessed by mixing 12.5 mg of intestinal luminal content with 250 μ L of a borate buffer (pH 7.5) containing 171 mM boric acid, 7.3 mM disodium tetraborate, 10 mM CaCl_2 and 43 mM NaCl. Then, protease activities and peptide amounts were determined by incubating for 1h at 37°C respectively 0.025 mg and 1.5 mg luminal content in 50 μ L borate buffer in the presence or absence of 0.48 mg purified casein (Sigma-Aldrich INC., St Louis, USA). The reaction was halted with 50 μ L of a TCA solution (7.06% in weight) and the samples were centrifuged at 12,000 g for 5 min. Then 20 μ L supernatant were mixed with 20 μ L of a NaOH solution (0.3M) and peptides released from casein were assayed in the supernatant against a bovine serum albumin (BSA) standard curve prepared exactly the same way that the experimental samples using the Biorad kit.

3.8. Assessment of the postprandial kinetics of dietary N

The ^{15}N -enrichment and total N in digesta, tissues, plasma and urine were measured by elemental analyzer isotopic ratio mass spectrometry (EA-IRMS) after freeze-drying and separation of N fractions (plasma urea, AA and protein) in the sampled pools as previously described (30). The ^{15}N -enrichment was measured by IRMS (Isoprime, GV Instruments, Manchester, UK) coupled to the EA (Euro Elemental Analyser 3000, EuroVector, Redavalle, Italy). Urea concentrations were determined using a commercial kit (Bio-Mérieux, Marcy l'Etoile, France). Tissue dry matter (DM) was determined after freeze-drying of the tissue and served to calculate tissue hydration. The total protein content (g) of tissues was determined as $P = \text{TM} \times \% \text{DM} \times \% \text{N} \times 6.25 / 1000$ where TM refers to dry tissue mass (g), %N refers to percentage of nitrogen and %DM refers to percentage of DM. The incorporation of dietary N (% of ingested) in samples was calculated as $N_{\text{inc}} = [(E_{\text{sample}} - E_{\text{basal}}) / (E_{\text{meal}} - E_{\text{basal}}) \times N_{\text{total}}] / (N_{\text{ing}} \times 100)$ where E refers to enrichment (Atom%) and N_{ing} refers to ingested nitrogen. The total deamination (% of ingested) was calculated as $\text{Deamination} = N_{\text{exo urine}} + ([\text{plasma urea}] \times \text{TBW} / 0.92 \times (E_{\text{plasma urea 5h}} - E_{\text{plasma urea basal}}) / (E_{\text{meal}} - E_{\text{plasma urea basal}}))$, where $N_{\text{exo urine}}$ refers to nitrogen incorporation in urine (mmolN), TBW refer to total body water (g), [plasma urea] the plasma urea concentration and E enrichment (Atom%).

3.9. Hormones, glucose and amino acid concentrations

Plasma leptin, insulin and glucagon concentrations were analyzed in duplicates using a rat endocrine panel (Linco Research, St-Charles, MI, USA) on

a Bioplex 200 system (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA). Plasma glucose concentrations were determined using a commercial kit (Bio-Mérieux, Marcy l'Etoile, France).

Amino acid concentrations were determined in plasma, urine, gastric and luminal content after acid precipitation (5% trichloroacetic acid for plasma and urine and 10% trichloroacetic acid for gastric and luminal content), centrifugation and supernatant collection. The supernatants were transferred to 10 kDa cut-off filter (Microcon Ultracel YM-10 Regenerated Cellulose 10,000 MWCO) and centrifuged for 5,000g at 4°C during 40 min. Amino acids were quantified in the filtrate using an automatic amino acid analyzer (L-8800, Hitachi, Tokyo, Japan) with ninhydrin reactant post-column reaction as previously described (31). Amino acids were separated by HPLC using an Hitachi ion exchange resin column with a sample injection volume between 0.1 and 100 μ L, a flow rate between 0.05 and 1.0 mL/min and a column temperature between 20 and 70°C. Amino acids were treated with o-phthalaldehyde (OPA) before detection. Finally, 3-methyl-histidine concentrations in urine were determined using the amino acid analyzer Hitachi L-8800. In addition, concentration of creatinine in urine was determined using the spectrophotometric method of Jaffe by the "Creatinine test Wako kit" (Wako Pure, Chemicals, Osaka, Japan).

3.10. Statistics

Data are expressed as means $\pm$ standard deviation (SD). The effects of MSG supplementation were analyzed by a 1-way ANOVA (SAS 9.1, SAS Institute, Cary, USA). Differences were considered significant at $P < 0.05$.

4. RESULTS

4.1. Food intake, body weight and body composition

After 15d of dietary adaptation, no significant differences were found between C and MSG-C groups for initial and final weight and weight gain (Table 2). Food intake and food efficiency ratio (weight gain/energy ingested) were not significantly affected by MSG supplementation. The body composition was not influenced by the diet excepted for the gastrocnemius muscle mass which was slightly reduced (-4% for MSG-C vs C $P=0.01$). The absence of MSG supplementation effect on body composition was consistent with the absence of significant difference in plasma leptin. Indeed, plasma leptin concentration was 694 ± 99 pM and 637 ± 91 pM for C and MSG-C rats respectively. For these results, data from MSG-C and MSG-A rats were pooled because these data mainly reflected 2-wk meal ingestion effect and not adaptation effect.

4.2. Gastro-intestinal transit and luminal intestinal proteases activity

Two parameters of gastric emptying rate were measured following meal ingestion: (1) time-course of gastric content masses and (2) ^{13}C excretion in expired breath after an oral dose of ^{13}C sodium acetate. Kinetic of the gastric content was not influenced by MSG

Effect of monosodium glutamate supplementation

Table 2. Effect of MSG supplementation on growth, dietary consumption and body composition after ingestion of test meal containing NaCl (C) or MSG in chronic condition (MSG-C) in rats (n=76)

	C	MSG-C	Stat effect ¹
Weight			
Initial weight (g)	353 ± 13	354 ± 15	NS
Final weight (g)	416 ± 20	423 ± 15	NS
Weight gain (g/15day)	63.5 ± 16.1	68.7 ± 16.0	NS
Consumption			
Food intake (kcal)	1325 ± 105	1366 ± 144	NS
Food efficiency (g/kcal)	5.1 ± 1.3	5.6 ± 1.2	NS
Tissue masses (g)			
Adipose tissues			
Mesenteric	9.38 ± 1.52	10.08 ± 1.69	NS
Perirenal	12.53 ± 2.56	13.71 ± 3.00	NS
Epididymal	12.58 ± 1.97	12.45 ± 2.58	NS
Lean tissues			
Small intestine	3.51 ± 0.52	3.38 ± 1.08	NS
Liver	12.50 ± 1.16	12.77 ± 1.18	NS
Stomach	1.66 ± 0.12	1.66 ± 0.12	NS
Kidney	2.26 ± 0.18	2.28 ± 0.17	NS
Gastrocnemius muscle	1.42 ± 0.09 ^a	1.36 ± 0.09 ^b	P=0.01

Results are expressed as means ± SD.¹ One way ANOVA; NS: not significant, Means in a row with different letters are significantly different (P<0.05, Tukey post-hoc test)

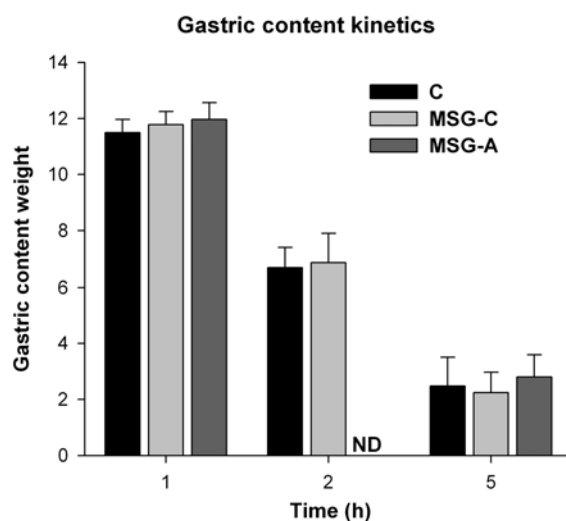


Figure 2. Effect of MSG supplementation on gastric content kinetics 1h, 2h and 5h after the meal (n=76) after ingestion of test meal containing NaCl (C) or MSG in chronic (MSG-C) and acute condition (MSG-A) in rats. Results are expressed as means ± SD. ND: Not determined. Bars with different letters are significantly different (P<0.05, Tukey post-hoc test).

supplementation (Figure 2). This was confirmed using the ¹³C-sodium acetate/¹³CO₂ test which showed no significant difference between MSG-supplemented groups and control group (data not shown). These results were represented as tracer appearance in expired breath. Areas under the curve reached 282 ± 122, 337 ± 200 and 338 ± 104 Atom% Excess/5h for C, MSG-C and MSG-A rats, respectively. The progression of the meal in the small intestine tended to be lower after MSG acute supplementation (-15% with MSG-A vs MSG-C, P=0.06), without any significant impact in overall oro-fecal transit time. Oro-fecal transit time was 497 ± 88 min, 545 ± 84 min and 559 ± 89

min for C, MSG-C and MSG-A rats respectively. Moreover MSG supplementation displayed no significant effect on luminal intestinal proteases activity and peptides. Luminal intestinal proteases activities were 4.1 ± 1.0 mg peptides released/mg of luminal content/h for C group and 4.2 ± 1.3 and 5.0 ± 0.9 mg/mg of luminal content/h for MSG group in chronic and acute conditions, respectively with no significant difference between experimental groups. Peptides in the intestinal lumen represented 13.40 ± 2.55 mg/g of luminal content for C group and 13.65 ± 2.54 and 11.08 ± 4.23 mg/g of luminal content for MSG group in chronic and acute conditions respectively with no significant difference.

4.3. Amino acid and enzymes related to glutamine metabolism

Not surprisingly glutamate was found at relatively high concentrations in the gastric contents after MSG ingestion (Figure 3A). Furthermore glutamate concentration in intestinal contents was affected by MSG supplementation in acute and chronic situation (+44% MSG-A vs C and +40% MSG-C vs C) 1h after the meal (Figure 3B). These significant differences were not observed 2h and 5h after the meal. Interestingly, the MSG supplementation affected glutamine concentration in plasma 2h after the meal without effect on any other amino acid concentration (Figure 4). Indeed, circulating glutamine concentration was 19% higher after MSG-C supplementation vs. C 2h after the meal. To gain insight into this increase, we determined glutamine urine concentration and enzymatic activities related to glutamine metabolism (glutaminase and glutamine synthetase) in liver, intestinal mucosa and muscle. Glutamine concentration was 41% higher after MSG-A supplementation vs. C in urine 5h after the meal but MSG-chronic supplementation failed to modify this concentration (Figure 5). Glutamine synthetase activity in muscle and glutaminase activity in intestinal mucosa were modified by MSG supplementation 1h after the meal but no effects on liver enzymatic activities were recorded (Figure 6). In fact, glutamine synthetase activity in muscle was significantly higher after MSG-A supplementation than in the MSG-C group. Glutamine synthetase in intestinal mucosa was equally low in the three experimental groups. Glutaminase activity in intestinal mucosa was respectively 17% lower after MSG-A supplementation and 21% lower after MSG-C supplementation than in the control group. When gene expression of glutaminase and glutamine synthetase was determined in liver, muscle and intestinal mucosa, no significant effect of MSG supplementation was recorded (data not shown).

4.4. Dietary and whole body protein metabolism

Five hours after the meal, dietary nitrogen transit was similar in stomach, intestinal, cecum and colon content when comparing MSG supplementation and control experimental groups (data not shown). The incorporation of dietary nitrogen into plasma amino acids and in tissues was not significantly affected by MSG acute or chronic supplementation. Five hours after the meal the dietary nitrogen total losses were similar in the three experimental groups of animals (data not shown). MSG chronic

Effect of monosodium glutamate supplementation

Table 3. Effect of MSG supplementation on tissue protein content 1h or 5h after ingestion of test meal containing NaCl (C) or MSG in chronic (MSG-C) and acute condition (MSG-A) in rats (n=56)

g protein /100 g tissue	C	MSG-C	MSG-A	Stat effect ¹
1h after the meal²				
Intestinal mucosa	13.58 ± 0.85 ^a	15.36 ± 2.17 ^b	13.93 ± 1.88 ^a	P<0.05
5h after the meal³				
Intestinal mucosa	12.43 ± 2.40	12.07 ± 0.73	12.03 ± 1.18	NS
Liver	20.52 ± 0.79	20.70 ± 1.53	21.22 ± 1.25	NS
Stomach	19.75 ± 2.57	19.48 ± 2.40	18.84 ± 0.82	NS
Kidney	19.69 ± 0.44	19.89 ± 0.86	20.28 ± 0.89	NS
Muscle	22.65 ± 0.41	21.97 ± 1.07	22.37 ± 1.06	NS

Results are expressed as means ± SD, ¹ One way ANOVA; NS: not significant, Means in a row with different letters are significantly different (P<0.05, Tukey post-hoc test), ² Determined by spectrophotometer, ³ Determined by EA-IRMS with total nitrogen

Table 4. Effect of MSG supplementation on fractional synthesis rate (FSR) and absolute synthesis rate (ASR) of tissue proteins measured 1h after ingestion of test meal containing NaCl (C) or MSG in chronic (MSG-C) and acute condition (MSG-A) in rats (n=24)

	C	MSG-C	MSG-A	Stat effect ¹
Stomach				
FSR (%/d)	66 ± 12	56 ± 9	68 ± 14	P<0.05
ASR (gP/d)	0.22 ± 0.05	0.19 ± 0.04	0.22 ± 0.05	NS
Intestinal mucosa				
FSR (%/d)	190 ± 25	171 ± 20	174 ± 28	NS
ASR (gP/d)	0.90 ± 0.22	0.78 ± 0.13	0.77 ± 0.09	NS
Liver				
FSR (%/d)	88 ± 12	94 ± 12	97 ± 9	NS
ASR (gP/d)	2.27 ± 0.36	2.40 ± 0.34	2.53 ± 0.21	NS
Total muscle				
FSR (%/d)	18.1 ± 2.3	18.1 ± 2.0	18.7 ± 2.1	NS
ASR (gP/d)	8.05 ± 1.49	7.72 ± 0.99	8.04 ± 0.99	NS

Results are expressed as means ± SD, ¹ One way ANOVA; NS: not significant

supplementation led to a significant increase of the intestinal mucosa protein content (+12% in MSG-C vs C P<0.05) 1h after the meal (Table 3). This effect was however only observed shortly after the meal since it was not observed 5h after the meal.

Five hour after the meal, the rates of protein degradation were not modified by the MSG supplementation as determined by the 3-methyl-histidine concentration in urine. Before the meal, urinary concentrations of 3-methyl-histidine concentration ranged from 30.9 to 33.6 nmol/g creatinine, and after the meal from 41.7 to 42.7 nmol/g creatinine with no difference between groups. Tissue fractional synthesis rates (FSR) and absolute synthesis rates (ASR) were determined after ¹³C-valine injection 20 min before rats sacrifice. The FSR and ASR of intestinal mucosa, liver and skeletal muscle were not significantly influenced by MSG supplementation (Table 4). A chronic, but not an acute MSG supplementation significantly reduced FSR in stomach 1h after the meal (Table 4).

4.5. Glucose and insulin

MSG supplementation had no significant effect on glycemia. Glucose concentrations were 1.91 ± 0.18 g/L for C group and 1.82 ± 0.14 and 1.87 ± 0.20 g/L 1h after the meal for MSG group in chronic and acute conditions, respectively (NS). Two hours after the meal, it was 1.86 ± 0.15 and 1.96 ± 0.14 g/L for C and MSG-C groups respectively (NS). Finally, 5h after the meal it was 1.70 ± 0.24 g/L for C group and 1.66 ± 0.42 and 1.86 ± 0.17 g/L for MSG-C and MSG-A groups

respectively (NS). Insulinemia (Figure 7A) was significantly affected by MSG supplementation 1h after the meal (40% higher in MSG-C vs C; P<0.04). However, 2h and 5h after the meal, no significant difference in insulinemia were recorded when comparing the 3 experimental groups. In contrast, glucagon concentration was not affected by MSG supplementation 1h, 2h and 5h after the meal (Figure 7B).

5. DISCUSSION

This study was performed to evaluate the influence of MSG supplementation on food intake, body composition, gastrointestinal transit, protease activities in the small intestine content, endocrine parameters, glutamine-related enzymatic activities, aminoacidemia and postprandial protein metabolism in rats. To test the importance of adaptation to MSG on the response, different groups of animals were used either receiving MSG for the first time (acute conditions) or after a 2-wk adaptation (chronic conditions).

MSG-chronic supplementation had no effect on food intake, body weight, adipose tissue mass, dietary nitrogen incorporation in gastrointestinal and other tissues and protein synthesis in intestinal mucosa, liver and muscles. Some animal studies have reported that MSG is able to induce overweight and/or obesity (2, 3). For instance, it is worth noting however that most of the evidence on weight gain was provided from animals that were injected subcutaneously with MSG at neonatal age with large dose of MSG i.e. in a situation which does not

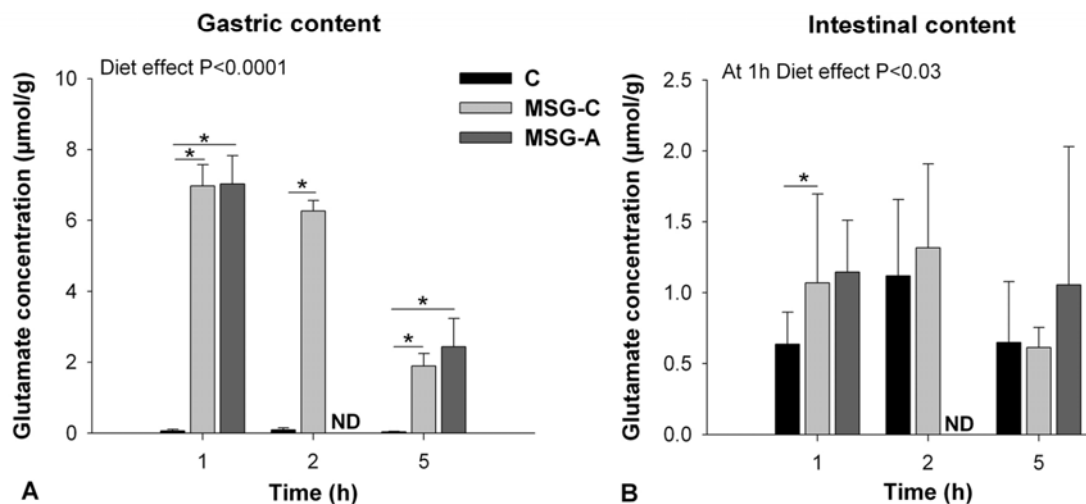


Figure 3. Effect of MSG supplementation on glutamate concentration in gastric (A) and intestinal contents (B) 1h, 2h and 5h after ingestion of test meal containing NaCl (C) or MSG in chronic (MSG-C) and acute condition (MSG-A) in rats ($n=76$). Results are expressed as means $\pm$ SD. ND: Not determined. *: significant difference between groups at each time ($P < 0.05$, Tukey post-hoc test).

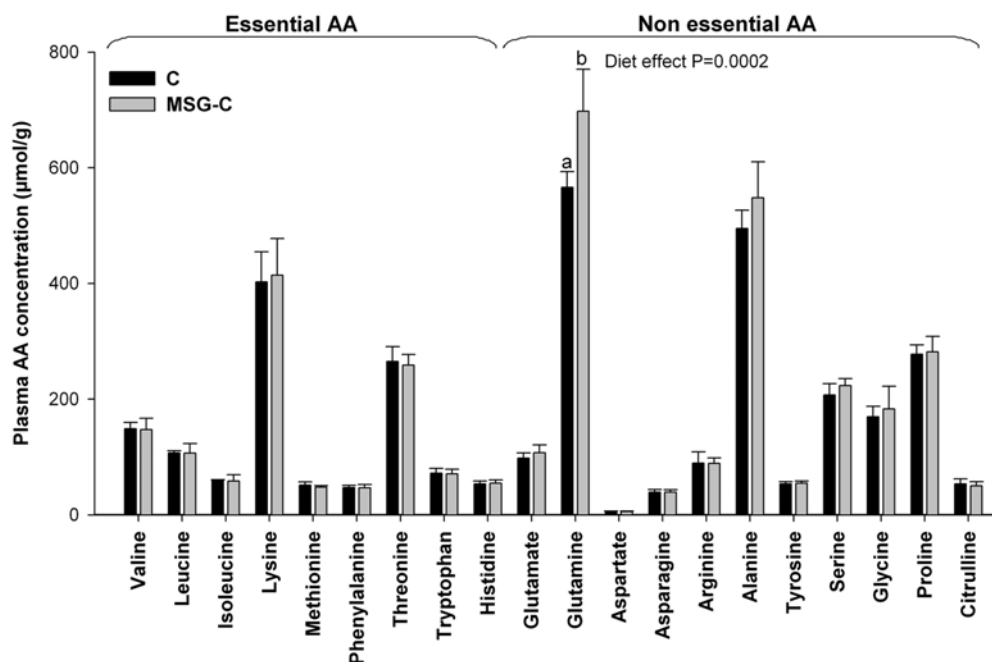


Figure 4. Effect of MSG supplementation on plasma concentrations of amino acids 2h after ingestion of test meal containing NaCl (C) or MSG in chronic condition (MSG-C) in rats ($n=20$). Results are expressed as means $\pm$ SD. Circulating amino acid concentrations were not determined for MSG-A supplemented rats. Bars with different letters are significantly different ($P < 0.05$, Tukey post-hoc test).

allow the intestine to catabolize the dietary glutamate during its transfer from the lumen to the portal blood. Interestingly and in contrast, MSG dissolved in the drinking water was found able to reduce weight gain, body fat mass, and plasma leptin concentrations in rats (32). Since these changes were not concomitant with modified

food intake, it was proposed that increased energy expenditure would explain the reduction in weight gain and body fat mass (33). The mechanism underlying MSG-induced obesity in non physiological situation remains unclear and controversial. Some studies have reported a lower lipolytic activity in adipocytes as well as higher

Effect of monosodium glutamate supplementation

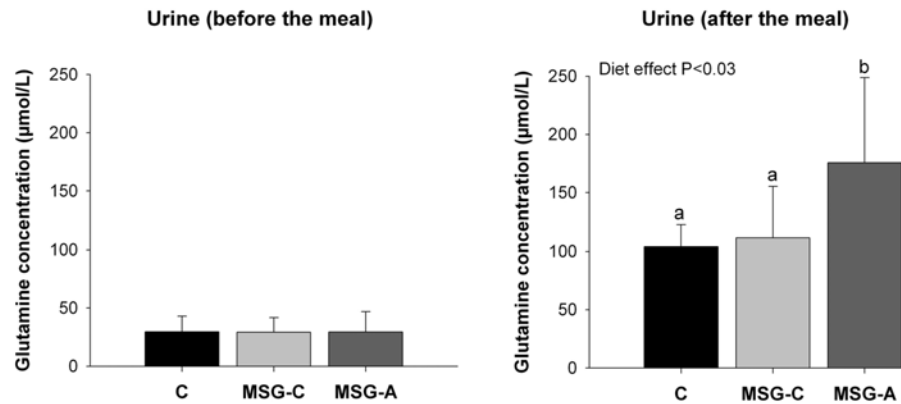


Figure 5. Effect of MSG supplementation on urine glutamine concentration before the meal and 5h after ingestion of test meal containing NaCl (C) or MSG in chronic (MSG-C) and acute condition (MSG-A) in rats (n=24). Results are expressed as means $\pm$ SD. Bars with different letters are significantly different ($P<0.05$, Tukey post-hoc test).

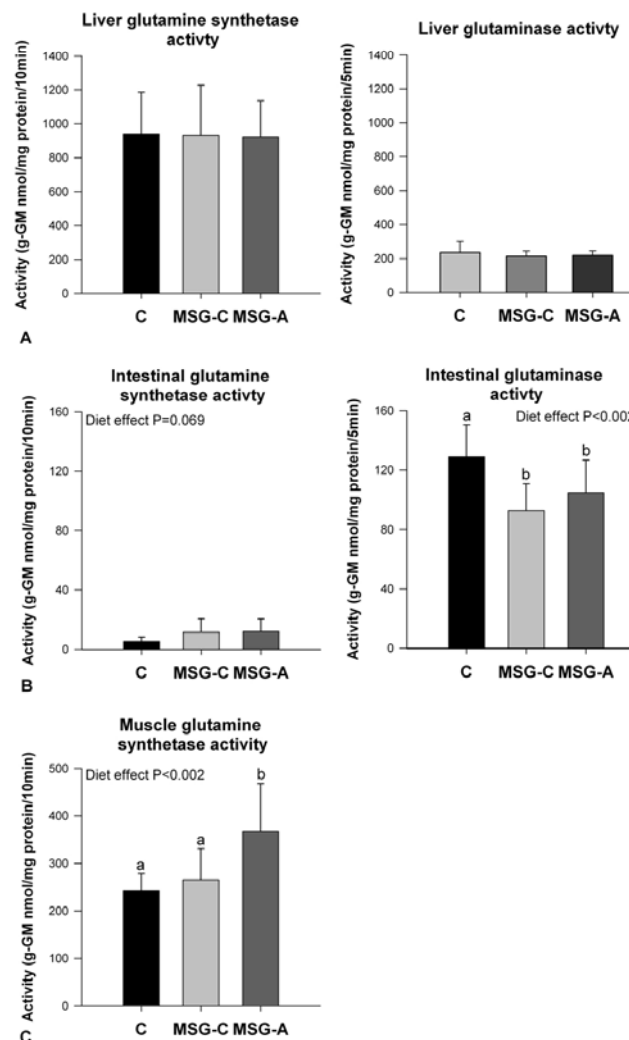


Figure 6. Effect of MSG supplementation on glutaminase and glutamine synthetase activity in liver (A), intestinal mucosa (B) and muscle (C) 1h after ingestion of test meal containing NaCl (C) or MSG in chronic (MSG-C) and acute condition (MSG-A) in rats (n=24). Results are expressed as means $\pm$ SD. Bars with different letters are significantly different ($P<0.05$, Tukey post-hoc test).

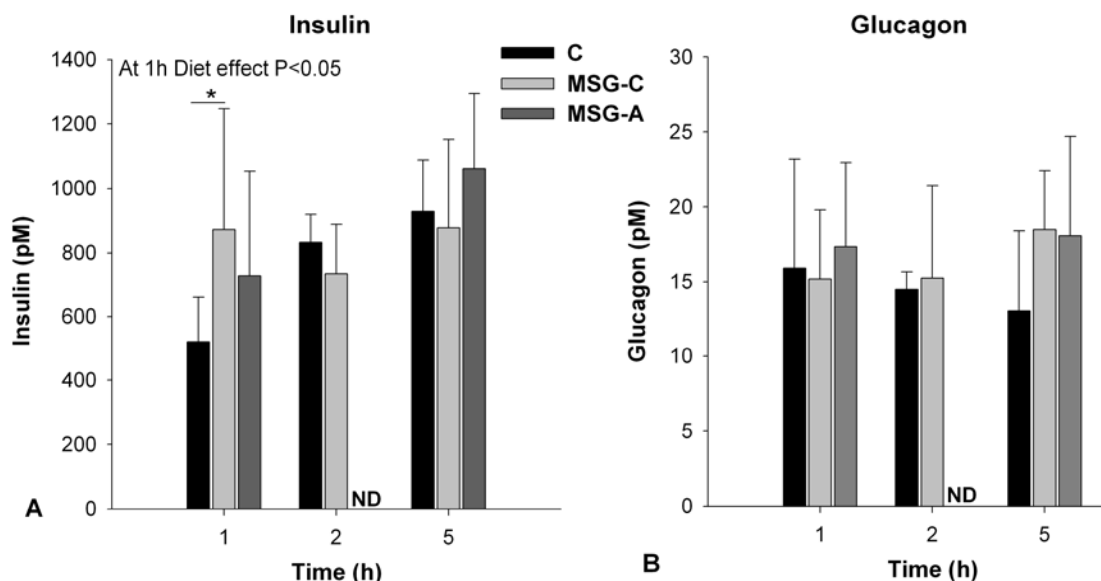


Figure 7. Effect of MSG supplementation on insulin (A) and glucagon (B) concentration 1h, 2h and 5h after ingestion of test meal containing NaCl (C) or MSG in chronic (MSG-C) and acute condition (MSG-A) in rats ($n=76$). Results are expressed as means $\pm$ SD. ND: Not determined. *: significant difference between groups at each time ($P < 0.05$, Tukey post-hoc test).

insulin sensibility in adipose tissues from MSG-administrated animals (34-36). In addition Hermanussen et al. have reported that chronic hyperglutamataemia exerts deleterious effects on the arcuate nucleus neurons, thereby disrupting the hypothalamic signaling cascade of leptin action and causing hyperphagia, obesity and hyperleptinaemia (37, 38). In supranutritional dose (i.e. 5g MSG per day in young rats), this compound has been reported to exhibit significant neuronal toxicity and to have an effect on appetite regulation (1).

Our study clearly demonstrates that MSG chronic supplementation increased circulating glutamine concentration. This increase was specific since glutamine was the only amino acid to be modified. Glutamic acid supplementation has been previously shown to noticeably enhance glutamine arterial concentration (39-41); although in these experiments, glutamate supplementation was at much higher doses than in the present study. Intestine represents a major site for glutamine catabolism in the body whatever its luminal or circulating origin through glutaminase activity (42, 43). The glutaminase isoform expressed in intestinal epithelial cells has been shown to be strongly inhibited by one of its product i.e. glutamate (44). In isolated enterocytes, glutamate is able to markedly reduce both glutamine utilization and oxidation indicating a sparing effect of glutamate on glutamine catabolism (24). Accordingly, the present study showed that blood glutamine increase was concomitant with a marked decrease of glutaminase activity in the intestine. Decrease of glutaminase activity in intestine together with the glutamate sparing effect on glutamine utilization are likely to play an important role in the increase of circulating glutamine concentration. In contrast, intestinal glutamine synthetase activity remained low after MSG chronic

supplementation. Glutamine synthetase is known to be expressed at low level in intestine in contrast with the situation in liver and muscles (45). In these latter tissues, glutamine synthetase activity was not modified by MSG-chronic supplementation but MSG-acute supplementation resulted in a significant increase of this activity. The interpretation of this result remains difficult since both stimulating and suppressive effect of glutamine on glutamine synthetase activity in muscles have been reported (46, 47). Our study also showed a significant increase of the concentration of glutamine in urine after acute MSG supplementation suggesting an increased glutamine glomerular filtration which remains to be tested in future work.

Other effects of dietary MSG supplementation were a decreased protein synthesis in stomach, a transient increased protein mass in the intestinal mucosa and a slightly decreased gastrocnemius muscle mass. These changes in protein metabolism could be related to the change in glutamine metabolism and in insulin but remain to be more precisely analyzed. Indeed, the increased glutamine concentration in circulating blood is likely to be involved in the transient increased insulin concentration in blood following MSG-chronic supplementation and test meal. Glutamine is well known to be rapidly taken up and metabolized by islet cells with enhancing effect of leucine-induced insulin secretion (14, 48). In contrast there was no significant change of the small intestine luminal protease activities and of the oro-faecal transit time indicating that in our experimental conditions, modifications of pancreatic exocrine secretion and of intestinal peristalsis were not detectable. The accumulation of glutamate in the stomach following chronic supplementation and test meal was, as expected, tremendous and still visible five hours after the

Effect of monosodium glutamate supplementation

meal. In our initial working hypothesis, since glutamate has been shown to produce tonic contractions of rat fundus (10), we envisaged that supplemental MSG through sharp increase of its gastric concentration (before glutamate release from alimentary proteins through the action of pepsin in the stomach) could have modify gastric emptying rate. However, such an effect was not detected in our study.

In conclusion an important finding of this study was the effect of MSG supplementation on plasma glutamine concentration which likely results –at least in part- from a sparing effect of glutamate on glutamine utilization in intestinal epithelial cells. This increase capacity of MSG to increase circulating glutamine may prove to be useful in situation of decreased circulating glutamine concentrations like the one occurring in some hypercatabolic situations (49) and require new experiments to be tested. The present work also demonstrated that chronic MSG supplementation used at the relatively high dose of 2% did not result in measurable change in food ingestion, weight gain and adiposity in the rat arguing against a promoting effect of MSG towards overweight and/or obesity.

6. ACKNOWLEDGEMENT

We wish to thank Catherine Luengo, Véronique Mathé and Julien Piedcoq for technical assistance. We also thank Ms. T. Kuwahara for her excellent technical assistance with the amino acid analysis.

7. REFERENCES

1. M. Hermanussen, A. P. Garcia, M. Sunder, M. Voigt, V. Salazar and J. A. Tresguerres: Obesity, voracity, and short stature: the impact of glutamate on the regulation of appetite. *Eur J Clin Nutr*, 60(1), 25-31 (2006)
2. R. Dawson, M. A. Pelleymounter, W. J. Millard, S. Liu and B. Eppler: Attenuation of leptin-mediated effects by monosodium glutamate-induced arcuate nucleus damage. *Am J Physiol*, 273(1 Pt 1), E202-6 (1997)
3. J. W. Olney and L. G. Sharpe: Brain lesions in an infant rhesus monkey treated with monosodium glutamate. *Science*, 166(903), 386-8 (1969)
4. P. R. Moul: Neuronal glutamate and GABAA receptor function in health and disease. *Biochem Soc Trans*, 37(Pt 6), 1317-22 (2009)
5. A. M. San Gabriel, T. Maekawa, H. Uneyama, S. Yoshie and K. Torii: mGluR1 in the fundic glands of rat stomach. *FEBS Lett*, 581(6), 1119-23 (2007)
6. F. Moroni, S. Luzzi, S. Franchi-Micheli and L. Zilletti: The presence of N-methyl-D-aspartate-type receptors for glutamic acid in the guinea pig myenteric plexus. *Neurosci Lett*, 68(1), 57-62 (1986)
7. H. E. Shannon and B. D. Sawyer: Glutamate receptors of the N-methyl-D-aspartate subtype in the myenteric plexus of the guinea pig ileum. *J Pharmacol Exp Ther*, 251(2), 518-23 (1989)
8. M. Sinsky and J. Donnerer: Evidence for a neurotransmitter role of glutamate in guinea pig myenteric plexus neurons. *Neurosci Lett*, 258(2), 109-12 (1998)
9. A. Larzabal, J. Losada, J. M. Mateos, R. Benitez, I. J. Garmilla, R. Kuhn, P. Grandes and R. Sarria: Distribution of the group II metabotropic glutamate receptors (mGluR2/3) in the enteric nervous system of the rat. *Neurosci Lett*, 276(2), 91-4 (1999)
10. S. M. Jankovic, D. Milovanovic, M. Matovic and V. Iric-Cupic: The effects of excitatory amino acids on isolated gut segments of the rat. *Pharmacol Res*, 39(2), 143-8 (1999)
11. B. G. Campbell, P. Couceyro, J. F. Keana and E. Weber: N-methyl-D-aspartate receptor-mediated contractions of the guinea pig ileum longitudinal muscle/myenteric plexus preparation: modulation by phencyclidine and glycine receptors. *J Pharmacol Exp Ther*, 257(2), 754-66 (1991)
12. M. Naim, I. Ohara, M. R. Kare and M. Levinson: Interaction of MSG taste with nutrition: perspectives in consummatory behavior and digestion. *Physiol Behav*, 49(5), 1019-24 (1991)
13. I. Ohara, S. Otsuka and Y. Yugari: Cephalic phase response of pancreatic exocrine secretion in conscious dogs. *Am J Physiol*, 254(3 Pt 1), G424-8 (1988)
14. P. Newsholme, L. Brennan, B. Rubi and P. Maechler: New insights into amino acid metabolism, beta-cell function and diabetes. *Clin Sci (Lond)*, 108(3), 185-94 (2005)
15. G. Bertrand, R. Puech, M. M. Loubatieres-Mariani and J. Bockaert: Glutamate stimulates insulin secretion and improves glucose tolerance in rats. *Am J Physiol*, 269(3 Pt 1), E551-6 (1995)
16. A. Nijima, T. Togiya and A. Adachi: Cephalic-phase insulin release induced by taste stimulus of monosodium glutamate (umami taste). *Physiol Behav*, 48(6), 905-8 (1990)
17. A. Battezzati, D. J. Brillion and D. E. Matthews: Oxidation of glutamic acid by the splanchnic bed in humans. *Am J Physiol*, 269(2 Pt 1), E269-76 (1995)
18. J. G. Henslee and M. E. Jones: Ornithine synthesis from glutamate in rat small intestinal mucosa. *Arch Biochem Biophys*, 219(1), 186-97 (1982)
19. P. J. Reeds, D. G. Burrin, B. Stoll, F. Jahoor, L. Wykes, J. Henry and M. E. Frazer: Enteral glutamate is the preferential source for mucosal glutathione synthesis in fed piglets. *Am J Physiol*, 273(2 Pt 1), E408-15 (1997)
20. Y. Wakabayashi, A. Iwashima, E. Yamada and R. Yamada: Enzymological evidence for the indispensability

Effect of monosodium glutamate supplementation

of small intestine in the synthesis of arginine from glutamate. II. N-acetylglutamate synthase. *Arch Biochem Biophys*, 291(1), 9-14 (1991)

21. G. Wu: Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*, 37(1), 1-17 (2009)

22. F. Blachier, C. Boutry, C. Bos and D. Tome: Metabolism and functions of L-glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines. *Am J Clin Nutr*, 90(3), 814S-821S (2009)

23. D. E. Matthews, M. A. Marano and R. G. Campbell: Splanchnic bed utilization of glutamine and glutamic acid in humans. *Am J Physiol*, 264(6 Pt 1), E848-54 (1993)

24. F. Blachier, G. Guihot-Joubrel, P. Vaugelade, J. Le Boucher, F. Bernard, P. Duee and L. Cynober: Portal hyperglutatememia after dietary supplementation with monosodium glutamate in pigs. *Digestion*, 60(4), 349-57 (1999)

25. L. Mosoni, T. Malmezat, M. C. Valluy, M. L. Houlier and P. P. Mirand: Muscle and liver protein synthesis adapt efficiently to food deprivation and refeeding in 12-month-old rats. *J Nutr*, 126(2), 516-22 (1996)

26. L. Chevalier, C. Bos, C. Gryson, C. Luengo, S. Walrand, D. Tome, Y. Boirie and C. Gaudichon: High-protein diets differentially modulate protein content and protein synthesis in visceral and peripheral tissues in rats. *Nutrition*, 25(9), 932-9 (2009)

27. P. C. Even, A. Mokhtarian and A. Pele: Practical aspects of indirect calorimetry in laboratory animals. *Neurosci Biobehav Rev*, 18(3), 435-47 (1994)

28. R. Minet, F. Villie, M. Marcollet, D. Meynial-Denis and L. Cynober: Measurement of glutamine synthetase activity in rat muscle by a colorimetric assay. *Clin Chim Acta*, 268(1-2), 121-32 (1997)

29. N. Chotechuang, D. Azzout-Marniche, C. Bos, C. Chaumontet, N. Gausseres, T. Steiler, C. Gaudichon and D. Tome: mTOR, AMPK, and GCN2 coordinate the adaptation of hepatic energy metabolic pathways in response to protein intake in the rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 297(6), E1313-23 (2009)

30. C. Bos, B. Stoll, H. Fouillet, C. Gaudichon, X. Guan, M. A. Grusak, P. J. Reeds, D. G. Burrin and D. Tome: Postprandial intestinal and whole body nitrogen kinetics and distribution in piglets fed a single meal. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 288(2), E436-46 (2005)

31. H. Meyer: The ninhydrin reaction and its analytical applications. *Biochem J*, 67(2), 333-40 (1957)

32. T. Kondoh and K. Torii: MSG intake suppresses weight gain, fat deposition, and plasma leptin levels in male Sprague-Dawley rats. *Physiol Behav*, 95(1-2), 135-44 (2008)

33. T. Kondoh, H. N. Mallick and K. Torii: Activation of the gut-brain axis by dietary glutamate and physiologic significance in energy homeostasis. *Am J Clin Nutr*, 90(3), 832S-837S (2009)

34. W. T. Cheung, C. M. Lee and C. C. Wong: Neonatal monosodium-L-glutamate treatment reduced lipolytic response of rat epididymal adipose tissue. *Gen Pharmacol*, 19(4), 507-12 (1988)

35. A. E. Hirata, I. S. Andrade, P. Vaskevicius and M. S. Dolnikoff: Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. *Braz J Med Biol Res*, 30(5), 671-4 (1997)

36. L. Macho, M. Fickova, Jezova and S. Zorad: Late effects of postnatal administration of monosodium glutamate on insulin action in adult rats. *Physiol Res*, 49 Suppl 1, S79-85 (2000)

37. M. Hermanussen and J. A. Tresguerres: Does high glutamate intake cause obesity? *J Pediatr Endocrinol Metab*, 16(7), 965-8 (2003)

38. M. Hermanussen and J. A. Tresguerres: Does the thrifty phenotype result from chronic glutamate intoxication? A hypothesis. *J Perinat Med*, 31(6), 489-95 (2003)

39. T. E. Graham, V. Sgro, D. Friars and M. J. Gibala: Glutamate ingestion: the plasma and muscle free amino acid pools of resting humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 278(1), E83-9 (2000)

40. M. J. Janeczko, B. Stoll, X. Chang, X. Guan and D. G. Burrin: Extensive gut metabolism limits the intestinal absorption of excessive supplemental dietary glutamate loads in infant pigs. *J Nutr*, 137(11), 2384-90 (2007)

41. C. Moundras, C. Remesy and C. Demigne: Dietary protein paradox: decrease of amino acid availability induced by high-protein diets. *Am J Physiol*, 264(6 Pt 1), G1057-65 (1993)

42. H. G. Windmueller and A. E. Spaeth: Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine. *J Biol Chem*, 249(16), 5070-9 (1974)

43. H. G. Windmueller and A. E. Spaeth: Intestinal metabolism of glutamine and glutamate from the lumen as compared to glutamine from blood. *Arch Biochem Biophys*, 171(2), 662-72 (1975)

44. N. P. Curthoys and M. Watford: Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. *Annu Rev Nutr*, 15, 133-59 (1995)

45. L. A. James, P. G. Lunn and M. Elia: Glutamine metabolism in the gastrointestinal tract of the rat assessed by the relative activities of glutaminase (EC 3.5.1.2) and glutamine synthetase (EC 6.3.1.2). *Br J Nutr*, 79(4), 365-72 (1998)

Effect of monosodium glutamate supplementation

46. B. Feng, S. K. Shiber and S. R. Max: Glutamine regulates glutamine synthetase expression in skeletal muscle cells in culture. *J Cell Physiol*, 145(2), 376-80 (1990)

47. Y. F. Huang, Y. Wang and M. Watford: Glutamine directly downregulates glutamine synthetase protein levels in mouse C2C12 skeletal muscle myotubes. *J Nutr*, 137(6), 1357-62 (2007)

48. A. Sener and W. J. Malaisse: L-leucine and a nonmetabolized analogue activate pancreatic islet glutamate dehydrogenase. *Nature*, 288(5787), 187-9 (1980)

49. A. M. Karinch, M. Pan, C. M. Lin, R. Strange and W. W. Souba: Glutamine metabolism in sepsis and infection. *J Nutr*, 131(9 Suppl), 2535S-8S; discussion 2550S-1S (2001)

Abbreviations: MSG: monosodium glutamate, GC-MS: gas chromatography mass spectrometry, GC-C-IRMS: gas chromatography combustion isotopic ratio mass spectrometry, EA-IRMS: elemental analyzer isotopic ratio mass spectrometry

Key words: Monosodium Glutamate, Glutamine, Protein Metabolism, Digestion, Insulin

Send correspondence to: Francois Blachier, UMR 914 INRA-AgroParisTech Nutrition Physiology and Ingestive Behavior, AgroParisTech 16 rue Claude Bernard, F-75005 Paris, France, Tel: 33144088675, Fax: 33 144081858, E-mail: francois.blachier@agroparistech.fr

<http://www.bioscience.org/current/volE3.htm>

2.2. Articles 2 : Le monosodium glutamate augmente la distension antrale et les acides aminés plasmatiques après un repas standard chez l'Homme

2.2.1. Résumé de l'étude

Objectifs

Mesurer les effets d'une supplémentation en MSG à dose nutritionnelle chez des sujets sains adaptés à une alimentation standard.

Les effets connus du glutamate sur le tractus digestif résultent principalement d'études *in vitro* et *in vivo* (animal) rendant difficile l'extrapolation de ces données chez l'Homme. L'étude de la distension antrale a été choisie comme principal paramètre car mesurable de manière non invasive et relativement simple et susceptible d'être un reflet de la vidange gastrique. La cinétique d'apparition des AA alimentaires dans le sang ainsi que le métabolisme azoté, les profils hormonaux et l'évaluation subjective de sensations de faim et de satiété ont aussi été étudiés en parallèle de la réponse gastrique.

Matériels et méthodes

Treize sujets sains ont été supplémentés pendant 6 jours avec une dose nutritionnelle de MSG (2g) ou de chlorure de sodium (NaCl, 0,87g) comme contrôle, suivant un dispositif croisé. Le 7^{ème} jour, les sujets ont été hospitalisés et suivis pendant 6h après l'ingestion d'un repas standard liquide (700kcal, 20% de l'énergie provenant de protéines marquées au ¹⁵N, 50% de glucides et 30% de lipides) supplémenté en MSG ou en NaCl. La mesure de l'aire antrale de l'estomac a été déterminée par échographie. Un schéma de l'estomac est représenté figure 15. Les cinétiques postprandiales de l'azote alimentaire ont été suivies après ingestion de protéines de lait marquées au ¹⁵N. L'enrichissement en ¹⁵N a été mesuré par EA-IRMS (analyseur élémentaire couplé à un spectromètre de masse à ratio isotopique) dans les pools d'azote accessibles (urée, protéine et AA plasmatique et urée et ammoniacque urinaire). Les concentrations circulantes en AA ont été analysées par chromatographie échangeuse d'ions. L'évaluation des sensations de faim et de satiété était mesurée grâce à des échelles analogiques visuelles.

Principaux résultats obtenus

La mesure par échographie de l'aire antrale de l'estomac a indiqué une augmentation significative de la distension antrale 2h après l'ingestion d'un repas supplémenté en MSG par rapport au NaCl. Cette phase postprandiale précoce a été aussi associée à une augmentation

significative des concentrations circulantes de leucine, isoleucine, valine, lysine, cystéine, alanine, tyrosine et tryptophane après supplémentation en MSG comparée au NaCl. Aucun changement au niveau des concentrations en glucose, insuline, GLP-1 et ghréline n'a été mis en évidence. L'évaluation subjective des sensations de faim et de satiété n'a pas été affectée par une supplémentation en MSG. Enfin, le devenir postprandial de l'azote alimentaire était similaire suite à l'ingestion de MSG ou de NaCl.

Conclusion :

Cette étude indique qu'une dose nutritionnelle de MSG administré de manière physiologique favorise l'élévation postprandiale de plusieurs AA indispensables dans le plasma et induit une augmentation de l'aire antrale, caractéristique d'une distension gastrique. Des travaux complémentaires sont nécessaires pour déterminer l'effet d'épargne possible du MSG sur le métabolisme des AA indispensables notamment au niveau intestinal. Ces changements physiologiques et métaboliques n'ont pas été associés dans notre étude à des changements au niveau du devenir métabolique de l'azote alimentaire, de la réponse hormonale, de la glycémie et des sensations de satiété.

2.2.2. Article 2

Monosodium glutamate raises antral distension and plasma amino acid after a standard meal in humans

Claire Boutry, Hideki Matsumoto, Gheorghe Airinei, Robert Benamouzig, Daniel Tomé, François Blachier and Cécile Bos

Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 300:G137-G145, 2011. First published 28 October 2010;
doi:10.1152/ajpgi.00299.2010

You might find this additional info useful...

This article cites 59 articles, 35 of which can be accessed free at:

<http://ajpgi.physiology.org/content/300/1/G137.full.html#ref-list-1>

Updated information and services including high resolution figures, can be found at:

<http://ajpgi.physiology.org/content/300/1/G137.full.html>

Additional material and information about *AJP - Gastrointestinal and Liver Physiology* can be found at:

<http://www.the-aps.org/publications/ajpgi>

This information is current as of January 6, 2011.

Monosodium glutamate raises antral distension and plasma amino acid after a standard meal in humans

Claire Boutry,^{1,2} Hideki Matsumoto,³ Gheorghe Airinei,⁴ Robert Benamouzig,^{1,2} Daniel Tomé,^{1,2} François Blachier,^{1,2} and Cécile Bos^{1,2}

¹INRA, Research Center for Human Nutrition-IdF, UMR914 and ²AgroParisTech, Research Center for Human Nutrition-IdF, UMR914 Nutrition Physiology and Ingestive Behavior, Paris, France; ³AJINOMOTO, Institute of Life Sciences, Amino Acid Basic and Applied Research Group, Kawasaki, Japan; and ⁴Avicenne Hospital, Service of Gastroenterology, Research Center for Human Nutrition-IdF, Bobigny, France

Submitted 24 June 2010; accepted in final form 21 October 2010

Boutry C, Matsumoto H, Airinei G, Benamouzig R, Tomé D, Blachier F, Bos C. Monosodium glutamate raises antral distension and plasma amino acid after a standard meal in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 300: G137–G145, 2011. First published October 28, 2010; doi:10.1152/ajpgi.00299.2010.—The consumption of monosodium glutamate (MSG) is advocated to elicit physiological and metabolic effects, yet these effects have been poorly investigated directly in humans and in particular in the postprandial phase. Thirteen healthy adults were supplemented for 6 days with a nutritional dose of MSG (2 g) or sodium chloride (NaCl) as control, following a crossover design. On the 7th day, they underwent a complete postprandial examination for the 6 h following the ingestion of the same liquid standard meal (700 kcal, 20% of energy as [¹⁵N]protein, 50% as carbohydrate, and 30% as fat) supplemented with MSG or NaCl. Real-ultrasound measures of antral area indicated a significant increased distension for the 2 h following the meal supplemented with MSG vs. NaCl. This early postprandial phase was also associated with significantly increased levels of circulating leucine, isoleucine, valine, lysine, cysteine, alanine, tyrosine, and tryptophan after MSG compared with NaCl. No changes to the postprandial glucose, insulin, glucagon-like peptide (GLP)-1, and ghrelin were noted between MSG- and NaCl-supplemented meals. Subjective assessments of hunger and fullness were neither affected by MSG supplementation. Finally, the postprandial fate of dietary N was identical between dietary conditions. Our findings indicate that nutritional dose of MSG promoted greater postprandial elevations of several indispensable amino acids in plasma and induced gastric distension. Further work to elucidate the possible sparing effect of MSG on indispensable amino acid first-pass uptake in humans is warranted. This trial was registered at clinicaltrials.gov as NCT00862017.

monosodium glutamate; circulating amino acids; gastric antral area; postprandial metabolism; gastric emptying

MONOSODIUM GLUTAMATE (MSG) is a worldwide-used flavor enhancer with a level of consumption that has increased 2.5 times between 1995 and 2007. In this context, it seems important to fully characterize the potential physiological and metabolic effects of this compound. Glutamate is extensively metabolized by enterocytes so dietary glutamate hardly appears in the portal vein (46). Glutamate is a major substrate in enterocytes (4) for energy production and protein metabolism (7). This amino acid is the precursor of metabolites that play important physiological roles, such as

glutathione (oxidative stress modulator) or *N*-acetylglutamate (metabolic regulator) (47, 55). In addition, L-glutamic acid is an excitatory neurotransmitter in the central nervous system and could represent an amino acid with signaling function like leucine that stimulates protein synthesis (17). MSG has been shown to stimulate brush-border membrane-associated enzymatic activities (36) and pancreatic secretions in duodenum (40). Some studies also suggest that glutamate enhances insulin secretion (1, 43) and glucose tolerance (1), although this point is controversial (34).

The possible effect of free glutamate on intestinal physiology is suggested by the existence of glutamate receptors in the gastric (41) and intestinal tracts, as well as in the hepatoportal area (42). Glutamate receptors have also been identified in Langerhans islets (20), in the myenteric plexus of the small intestine (50), or in the submucosal plexus in jejunum (31). Thus MSG could have an effect on gastric emptying through these receptors before significant amounts of glutamate are endogenously released through hydrolysis of dietary proteins. The blockade of *N*-methyl-D-aspartate receptors (glutamate receptor) by specific antagonists administered intraperitoneally accelerated gastric emptying (11). An interesting study has reported that MSG supplementation added to a high-energy, high-protein liquid diet accelerated gastric emptying in humans (58). However, a separate study failed to evidence any influence of MSG added to a high-protein meal on satiety in humans (33). Thus no comprehensive set of data is available in humans on the possible effects of MSG supplementation to a standard meal on gastric emptying and on the related effects in terms of satiety and postprandial metabolism.

The aim of this study was then to measure the effects of nutritional doses of MSG in healthy subjects adapted to a standard diet. The known effects of glutamate on the digestive tract principally arise from *in vitro* or *in vivo* (animal) studies, making extrapolation of these findings to humans difficult. We chose to study gastric distension as a main outcome because it may represent a determinant of intestinal nutrient delivery and also one of the parameters of intestinal physiology for which validated methods are available. Dietary amino acid appearance kinetics and metabolism, hormonal profiles, and subjective evaluation of hunger and fullness sensation were also studied in parallel to the digestive response. We particularly examined the postprandial metabolism of dietary amino acid because it is closely linked to absorption kinetics (6, 12, 15).

Address for reprint requests and other correspondence: F. Blachier, UMR914 INRA-AgroParisTech Nutrition Physiology and Ingestive Behavior, AgroParisTech, 16 rue Claude Bernard, F-75005 Paris, France (e-mail: blachier@agroparistech.fr).

MATERIALS AND METHODS

Subjects. The clinical study was performed in the Research Center for Human Nutrition (CRNH) Ile de France in Avicenne Hospital (Bobigny, France). The study protocol received the approval of the Institutional Review Board of Saint-Germain-en-Laye Hospital. Thirteen healthy subjects (7 female, 6 male) were recruited based on the following inclusion criteria: good health status, age between 30 and 50 yr, and body mass index between 23 and 28 kg/m². They were included after a thorough medical examination and a routine blood test. All subjects received detailed information on the protocol and gave their written informed consent to participate in the study. All subjects were studied under both the experimental and control conditions following a crossover design. The characteristics of the subjects are depicted on Table 1. The trial was registered at clinicaltrials.gov (NCT00862017).

Adaptation diets and test meals. The subjects were instructed to follow at home a standard diet providing adequate levels of energy in quantity and quality (33 kcal·kg⁻¹·day⁻¹, with 15% of energy as protein, 35% as fat, and 50% as carbohydrate) for two consecutive periods of 7 days. They received detailed menus depicting the nature and amounts of food for each of the three daily meals. This diet was supplemented daily in MSG (2 g) or in an equivalent load of sodium (Na) provided as sodium chloride (NaCl, 0.87 g) that was provided to the subjects in two daily doses. They were instructed to spread each capsule of powder on their food at lunch and dinner but were not informed if capsules were containing MSG or NaCl. The subjects were asked to ensure strict compliance with their diets and to complete daily record sheets regarding their food consumption. The rate of compliance was 100% during all experimental periods. At the end of each dietary adaptation, the subjects attended the CRNH clinical facility at 0900 for a whole experimental day, after an overnight fast. On that day, they received the test meal, composed of 38 g milk protein (19 g of casein and 19 g of milk soluble protein), 27 g fat (27 g of commercial oil combining rapeseed, sunflower, grapeseed oils, and Oléisol), 99 g carbohydrate (79 g of maltodextrin and 20 g of saccharose), and water to reach a final volume of 600 ml. The test meal provided 700 kcal (20% energy as protein, 35% as fat, and 45% as carbohydrate). The milk proteins were ¹⁵N-labeled, as used previously (25, 39). The global ¹⁵N isotopic enrichment was 0.5380 atom%. The test meal was supplemented with MSG (2 g) after the 7-day MSG adaptation period or with NaCl (0.87 g) after the 7-day adaptation control period.

Experimental protocol. Each subject was studied the last day of each dietary adaptation (supplemented with MSG or with a NaCl supplement) following a crossover design. The subjects arrived at the hospital after an overnight fast. After baseline collections of blood and urine samples, they ingested the standard liquid test meal. Blood was sampled at 30-min intervals for the first 3 h and then at 60-min intervals for the next 3 h. Total urine was collected every 2 h after the meal ingestion. Transabdominal real-time ultrasound measures of the antral diameter were performed by the same trained experimenter before the meal, just after the subject had finished drinking the meal (10 min), and then every 30 min for the first 3 h and every hour for the last 3 h. Subjective assessment of hunger, satiety, fullness, and desire to eat was made using 100-mm visual analog scales (VAS) adapted from Hill and Blundell (19). The clinician and the investiga-

tors involved in the measurement of gastric area and in the assessment of hunger and satiety were blinded regarding the dietary treatment. Briefly, subjects were instructed to rate themselves by marking how they felt at the moment of completing the following questions: Are you hungry? (no-yes); How does your stomach feel? (empty-very full); How many foods can you eat? (nothing-a large amount); and Would you like to eat? (no-yes). The VAS was presented to the subjects before the meal and every hour after the meal. Ratings on the scales were converted to a score (mm) for statistical analysis of their sensations of satiety, fullness, and hunger. Blood samples were centrifuged for 15 min at 1,500 g, and plasma was separated into aliquots for further analyses. Antiproteases were added to the plasma samples spared for the determination of hormone concentrations. Urine specimens were weighed and separated into aliquots. All the samples were stored at -20°C until analysis.

Measurement of antral gastric distension. The measurement of antral area was used as a parameter related to gastric emptying compared with the standard method scintigraphy (22, 37). Measures were performed throughout the experimental day by real-time ultrasound (Logiq Book XP; GE Medical Systems, Velizy, France) in subjects lying down in a supine position. A baseline measure was done just before the meal ingestion at time 0, and a second measure was performed after the completion of the meal, which slightly varied among subjects (time = 9.5 ± 4.0 min). The antral cross section was then determined every 30 min for the first 3 h following the meal ingestion and every hour for the three following hours by a blind trained experimenter. The lower border of the liver and the pancreas served as internal landmarks to determine the longitudinal section (*d*₁) of the antrum. The lower border of the liver, the aorta, the vena cava, and the gallbladder served to determine the cross section of the antrum (*d*₂). Antral diameters were computed to determine the antral area, according to the following formula: $\pi \times d_1 \times d_2 / 4$. The antral distension was calculated as the antral area at each time expressed as a percentage of the maximal retention measured just after the meal ingestion. Nonlinear regression was applied to determine the half-time of complete distension. The equation used for calculation is given by $y = y0 + a \times \exp(-b \times x)$ where *y* is the antral distension, *x* is time in min after the meal, and *y*0, *a*, and *b* are constants.

Assessment of the postprandial kinetics of dietary N. The postprandial metabolic fate of ¹⁵N-labeled dietary protein was determined through the measures of ¹⁵N enrichment in all of the accessible N pools: plasma amino acids, protein and urea, urinary urea, and ammonia. The kinetics of appearance of dietary N in plasma amino acid and urea pools has been shown to directly reflect intestinal absorption kinetics (6, 13). Urea and ammonia were isolated from urine and urea, and protein and amino acids were extracted from plasma as previously described (6). The ¹⁵N enrichment was measured by isotope ratio mass spectrometry (Isoprime; GV Instruments, Manchester, UK) coupled to an elemental analyzer (Euro Elemental Analyser 3000; EuroVector, Redavalle, Italy) with atropine as the standard. The metabolic fate of dietary N (expressed as a percentage of the ingested amount) in the different body N pools monitored (serum proteins and free amino acids, body urea, urinary urea, and ammonia) was calculated as detailed. The incorporation of dietary N (*N*_{inc}, %ingested) in samples was calculated as $N_{inc} = [(E_{sample} - E_{basal}) / (E_{meal} - E_{basal}) \times N_{total}] / (N_{ing} \times 100)$ where *E* refers to enrichment (atom%), *N*_{total} refers to nitrogen concentration, and *N*_{ing} refers to ingested nitrogen, as previously detailed (13).

Other analytical methods. Urea concentrations in plasma and urine were assayed using a commercial kit (Bio-Mérieux, Marcy l'Etoile, France). Plasma glucose was measured by using a glucose oxidase method (Glucose GOD-DP kit; Kone, Evry, France). Urinary creatinine was assayed by an enzymatic method (Dimension Automate; Dupont de Nemours, Les Ulis, France), and urinary ammonia was measured with an enzymatic method (Kone Automate; Kone). Plasma insulin, glucagons-like peptide (GLP)-1, and ghrelin concentrations were analyzed by using a human endocrine panel (Linco Research, St.

Table 1. Baseline characteristics of the subjects

	Females	Males
Age, yr	41.9 ± 3.7	41.8 ± 4.8
Height, cm	160 ± 2	174 ± 4
Body wt, kg	61.9 ± 5.0	77.8 ± 5.3
BMI, kg/m ²	24.2 ± 1.9	25.7 ± 1.6

Results are expressed as means ± SD. BMI, body mass index.

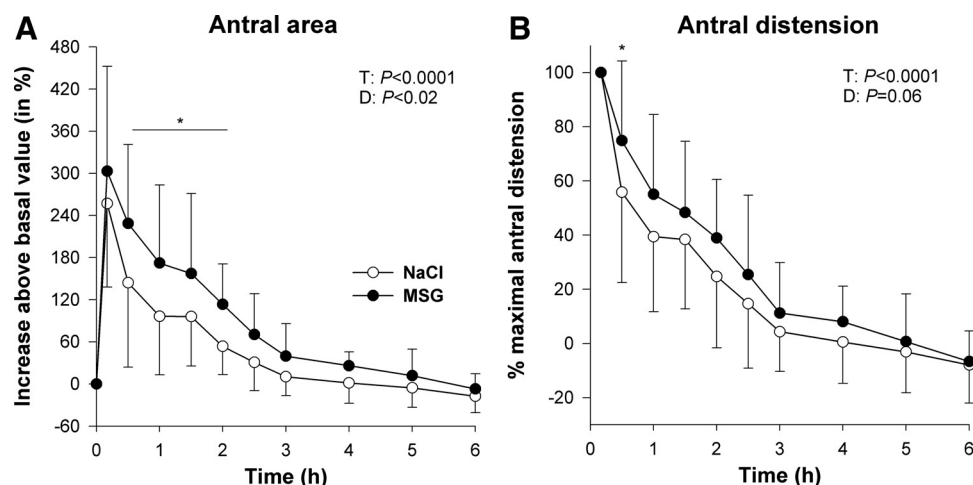


Fig. 1. Effect of monosodium glutamate (MSG) supplementation on time course of antral area (A) and on antral distension (B) after ingestion of a test meal containing NaCl or MSG in humans ($n = 13$, crossover design). Values are means $\pm$ SD. Time is given as hours from ingestion of the test meal. The main statistical effects [time (T), diet (D), and their interaction ($T \times D$)] from a mixed model for repeated measures over time are reported for each variable when $P < 0.1$. *Significant difference between NaCl and MSG at specific time points (post hoc Tukey's test): $P < 0.05$.

Charles, MO) on a Bioplex 200 system (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Plasma amino acids were analyzed by ion exchange chromatography after protein precipitation, with addition of nor-leucine as an internal standard (Biotech Instrument, St. Quentin-en-Yvelines, France).

Statistics. Data are expressed as means $\pm$ SD. Differences in summarized indexes of gastric emptying, area under the curve (AUC), and dietary N metabolism were tested by using paired t -tests. Differences between MSG and NaCl supplementations concerning the antral area, metabolite and hormonal postprandial profiles, and postprandial kinetics of dietary N were analyzed using mixed models for repeated-measure analysis, with the treatment and the time as independent, fixed factors and the subject as a random factor (version 9.1; SAS Institute, Cary, NC). For each variable, the most appropriate matrix of covariance structures for random statements was selected. Post hoc tests were performed by using contrast analysis. A P value < 0.05 was considered as being statistically significant.

RESULTS

Dietary adaptation and body weight. There was a good compliance of the subjects (100%) to the periods of dietary standardization and supplementation with MSG or NaCl. The body weight of the subjects remained stable after both periods (69.2 ± 10.2 and 69.1 ± 10.2 kg after NaCl and MSG supplementations, respectively). The fasting urea concentration, a marker of protein intake, also remained stable whatever the dietary adaptation (5.52 ± 1.90 and 5.52 ± 1.13 mmol/l after NaCl and MSG supplementations, respectively).

Gastric antral area. Gastric antral area as estimated using the ultrasonographic measurement method was significantly influenced by MSG supplementation. Basal antral areas before the test meal were similar after NaCl and MSG supplementation, averaging, respectively, 3.50 ± 0.83 and 3.30 ± 1.06 cm². The antral area after the test meal containing MSG was significantly larger than after the control test meal containing NaCl (diet effect: $P < 0.05$) (Fig. 1A). The difference between NaCl and MSG meals was significant between 30 and 90 min. There was also an effect of MSG addition to the meal on antral distension (diet effect: $P < 0.05$), significantly at 30 min (Fig. 1B). The increase of antral area at 30 min with MSG compared with NaCl (54% increase) when NaCl was first ingested (7 subjects) was not vastly different from the MSG-induced increase of antral area when MSG was first ingested (44% increase in 6 subjects). AUC for antral area was significantly increased after

MSG compared with NaCl for the six postprandial hours, with a particularly pronounced effect for the first 3 h following the meal ingestion (Table 2). Half-time of complete distension was significantly higher after MSG supplementation compared with NaCl (+72%) (Table 2).

Plasma amino acids. MSG supplementation elicited a significant increase in the AUC of plasma concentrations of glutamate, serine, cysteine, isoleucine, leucine, tyrosine, and ornithine (Table 3). There was a trend ($0.1 > P > 0.05$) for asparagine, alanine, citrulline, valine, and lysine. These increases were in the range of 10–25% above the AUC measured in control (NaCl) conditions. For amino acids such as branched-chain amino acids, lysine, tryptophan, tyrosine, or alanine, MSG induced higher plasma concentrations at 60 or 120 min postmeal, and the time course of plasma amino acids was very similar between MSG and NaCl conditions afterward (Fig. 2). For amino acids such as glutamate or cysteine, the higher AUC observed after MSG supplementation compared with NaCl was more constant throughout the postprandial period. Glutamine concentrations were not significantly modified by the dietary treatment.

Transfer of dietary N into plasma amino acids, urea, and proteins, and urinary ammonia and urea. The MSG supplementation had no significant effect on kinetics of dietary N in plasma, since there was no significant difference in the time course of appearance of dietary N into plasma amino acids after MSG or NaCl supplementation, which peaked in both

Table 2. Effect of MSG supplementation on the AUC obtained after measure of antral area by real-time ultrasound

	NaCl	MSG	Stat Effect*
Antral area, cm ²			
AUC ₀₋₁₈₀	1,134 $\pm$ 198	1,334 $\pm$ 356	$P = 0.05$
AUC ₀₋₃₆₀	1,724 $\pm$ 209	1,984 $\pm$ 403	$P < 0.05$
Antral area, %baseline value			
AUC ₀₋₁₈₀	504 $\pm$ 241	739 $\pm$ 366	$P < 0.05$
AUC ₀₋₃₆₀	463 $\pm$ 324	795 $\pm$ 487	$P < 0.05$
$T_{1/2}$ complete distension, min	52.7 $\pm$ 32.0	90.6 $\pm$ 41.9	$P < 0.05$

Results are expressed as means $\pm$ SD; $n = 13$ subjects, crossover design. MSG, monosodium glutamate; AUC, area under the curve; 0–180, 0–180 min; 0–360, 0–360 min; $T_{1/2}$, half-time. *Paired Student's test.

Table 3. AUC of plasma amino acid concentrations after ingestion of a test meal containing NaCl or MSG in humans

	NaCl	MSG	Change, %	Stat Effect*
Tau	394 ± 107	441 ± 114	11.9	NS
Asp	104 ± 37	107 ± 37	2.6	NS
Thr	909 ± 354	1,021 ± 396	12.3	NS
Ser	648 ± 256	728 ± 258	12.3	<i>P</i> < 0.05
Asn	1,059 ± 376	1,180 ± 428	11.5	<i>P</i> = 0.09
Glu	407 ± 106	451 ± 109	10.8	<i>P</i> < 0.005
Gln	1,656 ± 436	1,802 ± 611	8.8	NS
Gly	1,020 ± 368	1,107 ± 398	8.5	NS
Ala	2,197 ± 563	2,483 ± 721	13.0	<i>P</i> = 0.09
Cit	165 ± 49	180 ± 58	9.3	<i>P</i> = 0.08
Cys	99 ± 34	124 ± 46	24.9	<i>P</i> < 0.005
Val	1,427 ± 262	1,542 ± 316	8.1	<i>P</i> = 0.07
Met	146 ± 39	160 ± 45	9.5	NS
Ile	448 ± 81	513 ± 119	14.4	<i>P</i> < 0.05
Leu	956 ± 189	1,064 ± 231	11.3	<i>P</i> < 0.05
Tyr	384 ± 88	449 ± 106	16.7	<i>P</i> < 0.05
Phe	316 ± 78	333 ± 70	5.2	NS
His	402 ± 118	421 ± 133	4.8	NS
TrpP	339 ± 112	368 ± 97	8.3	NS
Orn	360 ± 115	411 ± 137	14.1	<i>P</i> < 0.05
Lys	1,253 ± 322	1,374 ± 367	9.6	<i>P</i> = 0.06
Arg	556 ± 185	584 ± 161	5.0	NS
Pro	1,505 ± 427	1,596 ± 554	6.0	NS
Total AA	16,752 ± 3,608	18,438 ± 4,411	10.1	<i>P</i> = 0.06
Indispensable AA	6,197 ± 1,326	6,795 ± 1,579	9.6	<i>P</i> < 0.05
Dispensable AA	10,555 ± 2,359	11,643 ± 2,886	10.3	<i>P</i> = 0.08
Neoglucogenic AA†	6,837 ± 1,815	7,591 ± 2,162	11.0	<i>P</i> = 0.08
Branched-chain AA‡	2,831 ± 516	3,119 ± 643	10.2	<i>P</i> < 0.05

Results are expressed as means ± SD; *n* = 13 subjects, crossover design. Values are expressed in μmol/6 h. AA, amino acid; NS, not significant. *Paired Student's test. †Sum of glutamate, glutamine, alanine, serine, threonine, and glycine concentrations. ‡Sum of valine, leucine, and isoleucine concentrations.

cases 4 h after the meal at 0.37–0.40% of the ingested dose (Fig. 3A). Consistently, the incorporation of dietary nitrogen into plasma urea was not influenced by MSG supplementation (Fig. 3B). There was also no significant difference in the incorporation of dietary nitrogen into other N-accessible pools (plasma proteins, urinary ammonia, and urea). The transfer of dietary N 6 h after the meal to plasma protein was $12.8 \pm 4.4\%$ of ingested and $11.7 \pm 1.7\%$ of ingested for NaCl and MSG, respectively. For urinary ammonia, it was 0.30 ± 0.19 and $0.29 \pm 0.15\%$ of ingested for NaCl and MSG, respectively, and for urinary urea it was 10.5 ± 4.4 and $11.9 \pm 3.2\%$ of ingested for NaCl and MSG, respectively. Deamination of dietary amino acids was not affected by MSG supplementation.

Plasma glucose and hormones and hunger-related perceived sensations. There was no significant effect of MSG supplementation on glycemia (Fig. 4A). Plasma insulin (Fig. 4B), GLP-1 (Fig. 4C), and ghrelin (Fig. 4D) concentrations were not significantly influenced by MSG supplementation during 6 h after the meal in humans. Following the ingestion of the standard meal, the MSG supplementation had no significant effect on the perception of hunger and fullness, despite a trend toward a significant interaction between time and treatment on hunger sensation (Fig. 5). The prospective food consumption and perceived pleasure curves were similar to that obtained for hunger (data not shown).

DISCUSSION

This randomized cross-over trial in dietary-controlled, healthy subjects revealed that MSG added at nutritional doses to a standard diet elicited an antral distension and an elevation of plasma concentrations of several amino acids, including

branched-chain amino acids, in the early postprandial phase. These physiological and metabolic effects were not associated with significant change in the metabolic fate of dietary N, the postprandial glucose and hormonal responses, and the gastrointestinal sensations of hunger and fullness.

The gastric distension following ingestion of a liquid, balanced meal providing approximately one-third of the daily energy intake was more pronounced in subjects receiving MSG at doses close to that commonly consumed than an equivalent dose of NaCl as control. The monitoring of antral area by two-dimension real-time ultrasound before and at regular intervals following the ingestion of the test meal has been proposed to represent a method to assess gastric emptying (5, 22), and the specific ultrasonographic monitoring of the antrum cross-sectional area is known to accurately detect variations in gastric volume (44, 48). MSG ingestion elicited an 18% higher AUC of antrum for the first 3 h after the meal ingestion. However, it is not obvious that the antral distension observed in our study after the MSG-supplemented meal really reflected a change in meal gastric emptying. Indeed, our results may rather be explained as a MSG-induced enhanced gastric secretion without increased gastric emptying resulting in increased antral distension. Our results are in contrast with that of the only available study that has evaluated the effect of MSG supplementation on gastric emptying using an oral dose of [^{13}C]sodium acetate (58). Using this latter method, the authors reported an acceleration of gastric emptying after MSG supplementation added to a protein-rich liquid diet, but no effect was observed when MSG was added to a carbohydrate-rich diet or to the same volume of water. Different hypotheses can be

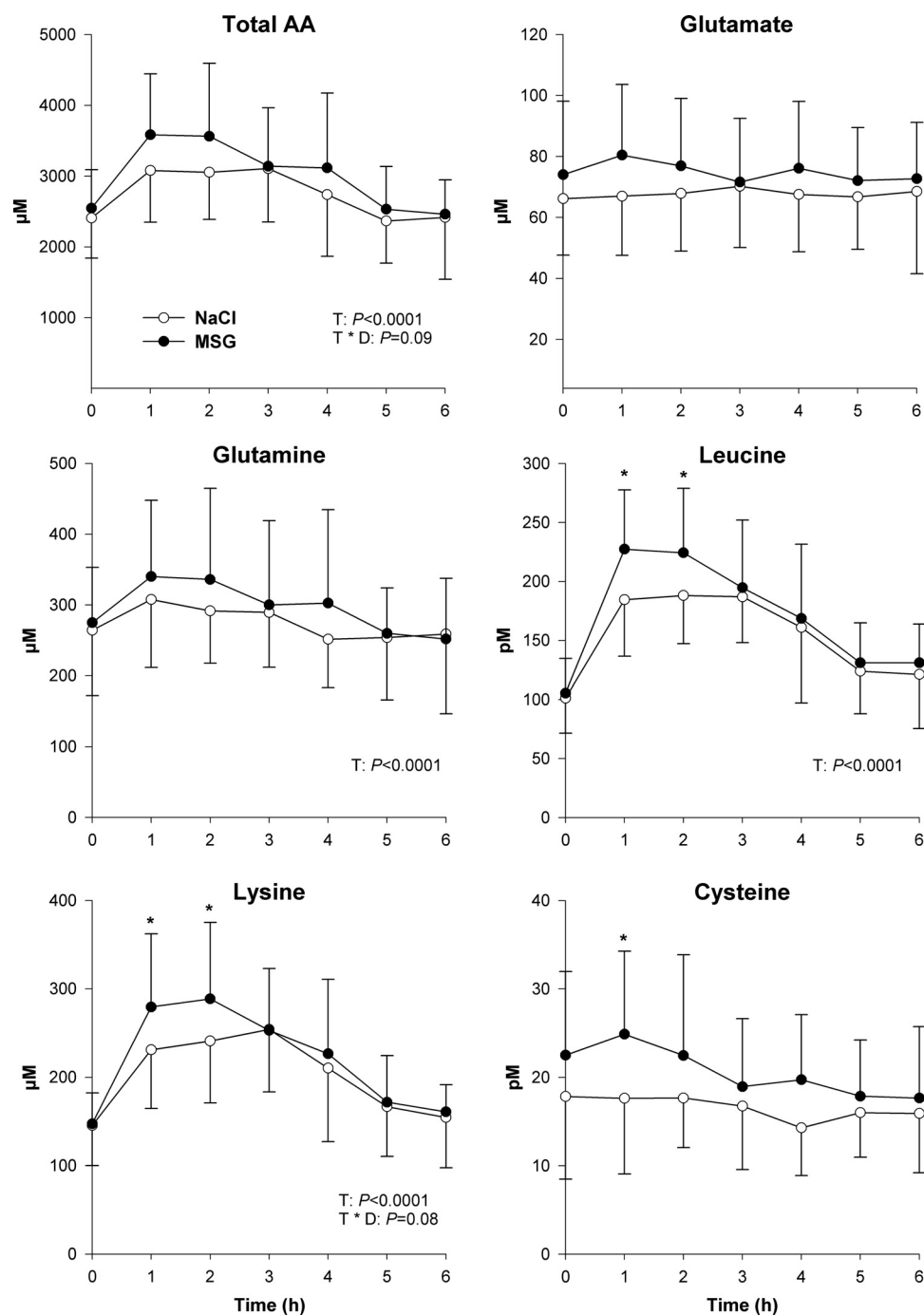
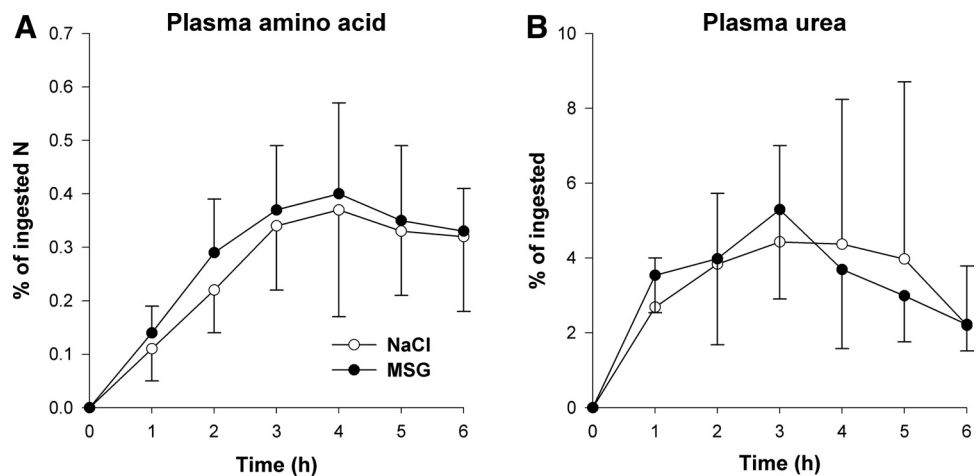


Fig. 2. Plasma concentrations of total amino acids (AA), glutamate, glutamine, leucine, lysine, and cysteine after ingestion of a test meal containing NaCl or MSG in humans ($n = 13$, crossover design). Values are means $\pm$ SD. Time is given as hours from ingestion of the test meal. The main statistical effects (T , D , and $T \times D$) from a mixed model for repeated measures over time are reported for each variable when $P < 0.1$. *Significant difference between NaCl and MSG at specific time points (post hoc Tukey's test): $P < 0.05$.

advanced to explain the discrepancy between Zai et al.'s (58) findings and the present results. We used a meal that contained more energy (700 vs. 400 kcal) and represented a larger volume (600 vs. 400 ml) than the meal used in their study, and both parameters are likely to influence gastric emptying (28). The concentration of MSG was lower in our study (16 vs. 30 mmol/l). Moreover, the protein source used in the study by Zai et al. was casein, whereas we used total milk proteins (35). Last but not least, as reported above, Zai et al. used [^{13}C]sodium acetate administration to measure gastric emptying while we used ultrasonographic monitoring of the antrum area.

Animal studies have been performed to assess the direct effect of MSG supplementation on gastric emptying or intestinal peristalsis. Toyomasu et al. (54) have shown stimulation of the upper gut motility through the vagus nerve after intragastric MSG stimulation, an effect that was associated with an acceleration of the gastric emptying rate. Furthermore, injection of MSG in stomach, duodenum, and portal vein increases gastric vagal afferent activity in rats (42, 56). However, it is worth noting that experimental conditions in animal and human studies are often very different, thus complicating comparison on the effects of MSG in these situations.

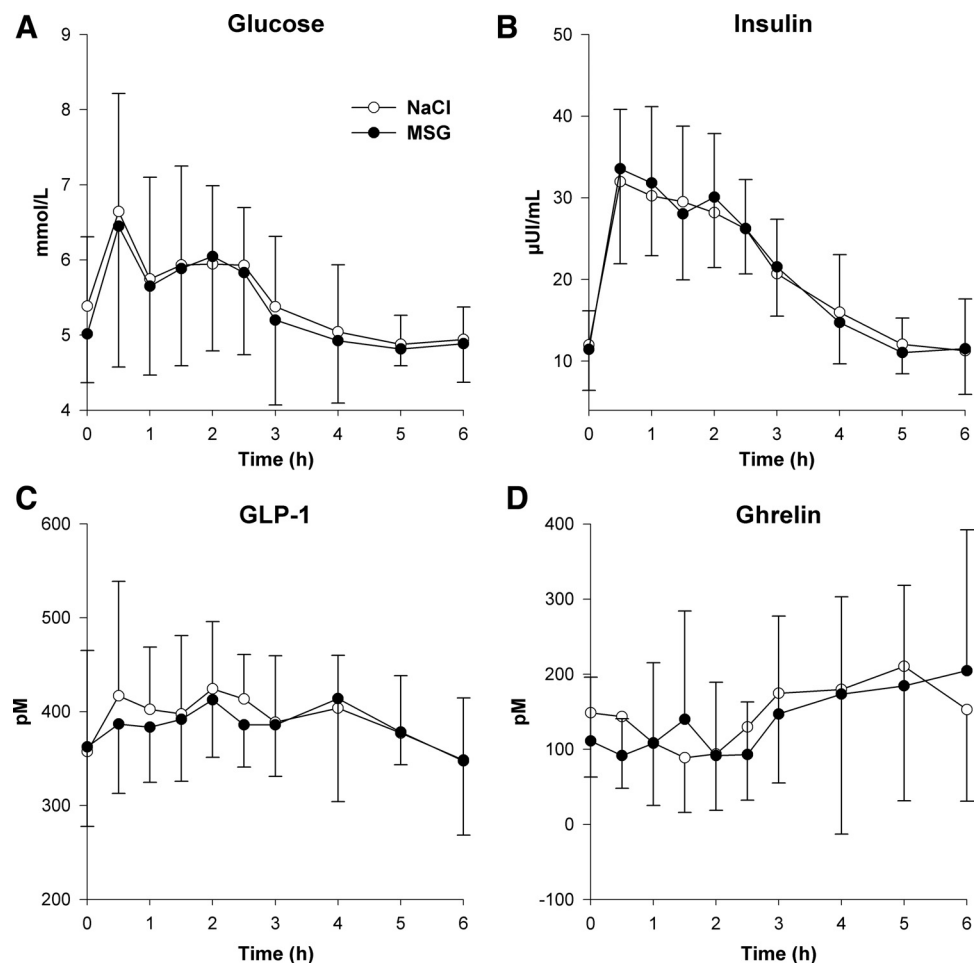
Fig. 3. Systemic utilization of dietary N. N incorporation into plasma amino acid (A) and urea (B) after ingestion of a test meal containing NaCl or MSG in humans ($n = 13$, crossover design). Values are means $\pm$ SD. Time is given as hours from ingestion of the test meal.



An interesting finding of the present study was the transient rise in plasma concentrations of many amino acids when subjects ingested the MSG-supplemented meal. This effect concerned in particular branched-chain amino acids, with significant 20–25% increases of circulating concentrations of leucine and isoleucine at 1 and 2 h after the meal. Branched-chain amino acid systemic availability has consistently been found to be increased in animals supplemented with MSG (24, 26, 30). This effect suggests a

sparing effect of MSG on branched-chain amino acid first-pass uptake, through the implication of glutamate in reducing branched-chain amino acid transamination. Recently, enterocytes isolated from pig jejunum have been shown to extensively transaminate branched-chain amino acids, a phenomenon that is stimulated by α -ketoglutarate (8). In humans, leucine first-pass uptake may represent 13–37% of the dietary leucine intake (2, 10, 21, 23, 38), and it is conceivable that decreased transamination might translate

Fig. 4. Plasma concentrations of glucose (A), insulin (B), glucagon-like peptide (GLP)-1 (C), and ghrelin (D) after ingestion of a test meal containing NaCl or MSG in humans ($n = 13$, crossover design). Values are means $\pm$ SD. Time is given as hours from ingestion of the test meal.



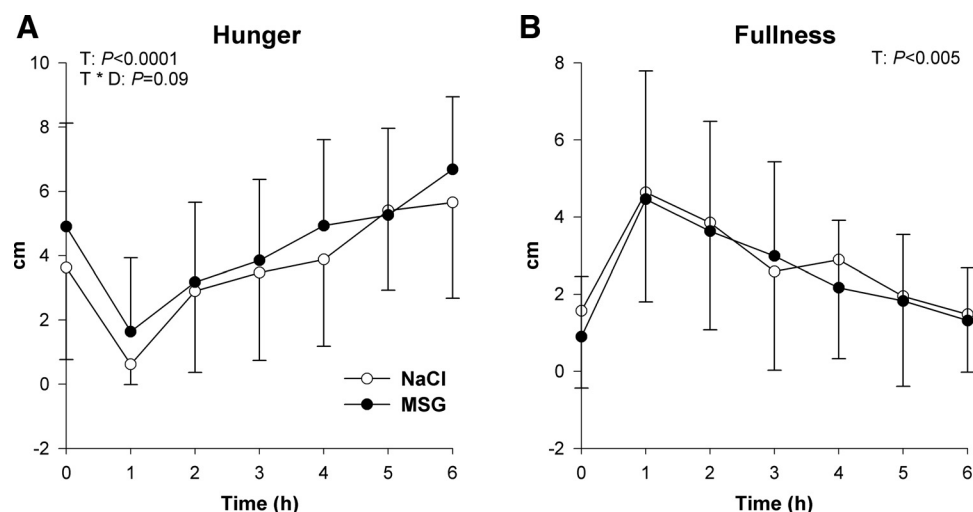


Fig. 5. Effect of MSG supplementation on perception of fullness (B) and hunger (A) after ingestion of a test meal containing NaCl or MSG in humans ($n = 13$, crossover design). Values are means $\pm$ SD. Time is given as hours from ingestion of the test meal. The main statistical effects (T, D, and $T \times D$) from a mixed model for repeated measures over time are reported for each variable when $P < 0.1$.

into elevation of plasma concentrations. Increased postprandial glutatemia, although of mild amplitude (11% increase of the postprandial AUC), is in line with previous results obtained in humans (51, 52).

We also found an increase in other amino acids that are derived from glutamate, including ornithine, citrulline, and alanine, in accord with other studies (24, 26, 30, 53) and with the known capacity of isolated enterocytes to convert glutamate into ornithine and citrulline and to allow pyruvate transamination into alanine (3). In contrast, this study did not demonstrate a significant increase in glutamine, aspartate, proline, or arginine as previously reported (24, 51). Last, since the catabolism of cysteine and tyrosine involves transamination with α -ketoglutarate being converted to glutamate, it is conceivable that glutamate through a mere mass-action phenomenon would participate in the sparing of these amino acids and thus in their increased plasma concentration. Data obtained in pigs from arteriovenous differences in tyrosine plasma concentrations suggest that this amino acid is little degraded by the intestine in this experimental model (57). Regarding cysteine catabolism, from the low appearance of this amino acid in the portal blood ($<20\%$ of dietary intake), it has been suggested that piglet intestine extensively utilizes cyst(e)ine (49), a suggestion that is in line with the capacity of isolated enterocytes to catabolize this amino acid (9).

By contrast with the effects on aminoacidemia, we could not evidence any detectable difference in the postprandial metabolic fate of dietary proteins, whether the subjects ingested the meal with or without MSG. The ^{15}N -labeled protein was used in the experimental meals because we have previously shown that the postprandial appearance of dietary N in pools such as plasma amino acids or urea is very sensitive to the kinetics of intestinal delivery of dietary proteins (6, 13, 16, 29). Because the measure of postprandial dietary N retention gives a global picture of protein metabolism, we cannot infer from our results that protein synthesis and/or degradation rates were unaffected by the dietary treatment but only that the net utilization of dietary N was similar. The discrepancy between the MSG-induced increase in plasma amino acids and the absence of effect of MSG on dietary N appearance in plasma amino acids and urea indicates that the improved systemic availability of amino acids may rather be the result of a modified first-pass

uptake than the result of changes in protein fluxes. However, it would be necessary to perform studies with tracers to clarify this point.

GLP-1 and ghrelin are two gastrointestinal hormones that are potent regulators of gastric emptying (18). However, in this study, postprandial GLP-1 and ghrelin concentrations were not significantly influenced by dietary MSG, and there was no clear association between these hormones and the functional response observed at the gastric level. The glucose and insulin postprandial responses were also unaffected by MSG, which is in accord with the GLP-1 results. Collectively, our results are in agreement with the only study that has assessed the effect of MSG (0.6%) administration to a high-protein meal on satiety, energy intake, and hormone circulating concentrations in humans (33). Accordingly, the MSG ingestion was not associated with any changes to the postprandial gastrointestinal sensations (fullness, hunger). Despite crossover design, our study may have lacked power to detect subtle changes in such sensations because visual analog scales represent a technique with high intersubject variability. Moreover, if modifications of the gastric volume are one component that intervenes in the sensations of fullness and hunger after a meal, they are not always sufficient to induce changes to satiety and hunger feelings (45).

In conclusion, we show that MSG supplementation at nutritional doses elicits in healthy humans a postprandial gastric distension and an elevation of several amino acid plasma concentrations that are possibly linked. These physiological and metabolic effects had, however, no measurable consequences in terms of satiety, hormone profiles, or dietary N metabolism. Thus, it can be hypothesized that the gastric distension did not translate into a delay of gastric emptying. The mechanisms involved in such distension are not known but may involve an increased water or acid secretion in the stomach in response to MSG supplementation. A recent study showing the stimulation of gastric acid secretion by MSG in dogs is in accordance with this hypothesis (59). Moreover, intraduodenal, but not intrajejunal, infusion of amino acids stimulates gastric secretion (32). Intravenous infusion of amino acids is also able to have this latter effect and acts on both acid and pepsin secretion (27). Our findings call for further studies to elucidate the mechanisms by which dietary glutamate impact systemic amino acid concentrations and the consequences of

such modulations. Last, it is worth noting that, in the present study, amino acid concentrations were measured in blood plasma but not in erythrocytes, which can contribute to the interorgan transfer of amino acids (14). However, although some amino acids are highly concentrated in erythrocytes, it is generally considered that the exchanges with plasma proceed very slowly, and thus this intracellular pool is considered to contribute poorly to interorgan fluxes.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Marie-Claude Amard for assistance in volunteers' recruitment, Julianne Calvez for help with visual analogic scales, and Catherine Luengo and Véronique Mathé for technical assistance. We acknowledge Jacques Fauquant (STLO laboratory, Rennes, France) for labeled milk proteins.

GRANTS

The project was supported by Ajinomoto (Japan) and by grants from the National Institute for Agronomic Research (INRA, France).

DISCLOSURES

None of the authors had a conflict of interest.

REFERENCES

- Bertrand G, Puech R, Loubatieres-Mariani MM, Bockaert J. Glutamate stimulates insulin secretion and improves glucose tolerance in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 269: E551–E556, 1995.
- Biolo G, Tessari P, Inchiostro S, Bruttomesso D, Fongher C, Sabadin L, Fratton MG, Valerio A, Tiengo A. Leucine and phenylalanine kinetics during mixed meal ingestion: a multiple tracer approach. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 262: E455–E463, 1992.
- Blachier F, Boutry C, Bos C, Tome D. Metabolism and functions of L-glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines. *Am J Clin Nutr* 90: 814S–821S, 2009.
- Blachier F, Guihot-Joubrel G, Vaugelade P, Le Boucher J, Bernard F, Duee P, Cynober L. Portal hyperglutatememia after dietary supplementation with monosodium glutamate in pigs. *Digestion* 60: 349–357, 1999.
- Bolondi L, Bortolotti M, Santi V, Calletti T, Gaiani S, Labo G. Measurement of gastric emptying time by real-time ultrasonography. *Gastroenterology* 89: 752–759, 1985.
- Bos C, Metges CC, Gaudichon C, Petzke KJ, Pueyo ME, Morens C, Everwand J, Benamouzig R, Tome D. Postprandial kinetics of dietary amino acids are the main determinant of their metabolism after soy or milk protein ingestion in humans. *J Nutr* 133: 1308–1315, 2003.
- Burrin DG, Stoll B. Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut. *Am J Clin Nutr* 90: 850S–856S, 2009.
- Chen L, Li P, Wang J, Li X, Gao H, Yin Y, Hou Y, Wu G. Catabolism of nutritionally essential amino acids in developing porcine enterocytes. *Amino Acids* 37: 143–152, 2009.
- Coloso RM, Stipanuk MH. Metabolism of cyst (e) in rat enterocytes. *J Nutr* 119: 1914–1924, 1989.
- Cortiella J, Matthews DE, Hoerr RA, Bier DM, Young VR. Leucine kinetics at graded intakes in young men: quantitative fate of dietary leucine. *Am J Clin Nutr* 48: 998–1009, 1988.
- Covasa M, Ritter RC, Burns GA. NMDA receptor participation in control of food intake by the stomach. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 278: R1362–R1368, 2000.
- Dangin M, Boirie Y, Garcia-Rodenas C, Gachon P, Fauquant J, Callier L, Balleve O, Beaufre B. The digestion rate of protein is an independent regulating factor of postprandial protein retention. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280: E340–E348, 2001.
- Deglaire A, Fromentin C, Fouillet H, Airinei G, Gaudichon C, Boutry C, Benamouzig R, Moughan PJ, Tome D, Bos C. Hydrolyzed dietary casein as compared with the intact protein reduces postprandial peripheral, but not whole-body, uptake of nitrogen in humans. *Am J Clin Nutr* 90: 1011–1022, 2009.
- Felig P, Wahren J, Raf L. Evidence of inter-organ amino-acid transport by blood cells in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 70: 1775–1779, 1973.
- Fouillet H, Juillet B, Gaudichon C, Mariotti F, Tome D, Bos C. Absorption kinetics are a key factor regulating postprandial protein metabolism in response to qualitative and quantitative variations in protein intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 297: R1691–R1705, 2009.
- Fouillet H, Mariotti F, Gaudichon C, Bos C, Tome D. Peripheral and splanchnic metabolism of dietary nitrogen are differently affected by the protein source in humans as assessed by compartmental modeling. *J Nutr* 132: 125–133, 2002.
- Garlick PJ. The role of leucine in the regulation of protein metabolism. *J Nutr* 135: 1553S–1556S, 2005.
- Hellstrom PM, Gryback P, Jacobsson H. The physiology of gastric emptying. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 20: 397–407, 2006.
- Hill AJ, Blundell JE. Nutrients and behaviour: research strategies for the investigation of taste characteristics, food preferences, hunger sensations and eating patterns in man. *J Psychiatr Res* 17: 203–212, 1982.
- Hinoi E, Takarada T, Ueshima T, Tsuchihashi Y, Yoneda Y. Glutamate signaling in peripheral tissues. *Eur J Biochem* 271: 1–13, 2004.
- Hoerr RA, Matthews DE, Bier DM, Young VR. Leucine kinetics from [³H₃]- and [¹³C]leucine infused simultaneously by gut and vein. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 260: E111–E117, 1991.
- Holt S, Cervantes J, Wilkinson AA, Wallace JH. Measurement of gastric emptying rate in humans by real-time ultrasound. *Gastroenterology* 90: 918–923, 1986.
- Horber FF, Haymond MW. Human growth hormone prevents the protein catabolic side effects of prednisone in humans. *J Clin Invest* 86: 265–272, 1990.
- Janeczko MJ, Stoll B, Chang X, Guan X, Burrin DG. Extensive gut metabolism limits the intestinal absorption of excessive supplemental dietary glutamate loads in infant pigs. *J Nutr* 137: 2384–2390, 2007.
- Juliet B, Fouillet H, Bos C, Mariotti F, Gausseres N, Benamouzig R, Tome D, Gaudichon C. Increasing habitual protein intake results in reduced postprandial efficiency of peripheral, anabolic wheat protein nitrogen use in humans. *Am J Clin Nutr* 87: 666–678, 2008.
- Kawamata Y, Kuwahara T, Kodama R, Yoneda Y, Torii K, Sakai R. Dietary glutamic acid increased postprandial availability of alanine and branched-chain amino acids in rats (Abstract). *Clin Nutr Suppl* 3: 221, 2008.
- Konturek SJ, Kwiecień N, Obtulowicz W, Mikos E, Sito E, Oleksy J. Comparison of intraduodenal and intravenous administration of amino acids on gastric secretion in healthy subjects and patients with duodenal ulcer. *Gut* 19: 859–864, 1978.
- Kwiatk MA, Menne D, Steingotter A, Goetze O, Forras-Kaufman Z, Kaufman E, Fruehauf H, Boesiger P, Fried M, Schwizer W, Fox MR. Effect of meal volume and calorie load on postprandial gastric function and emptying: studies under physiological conditions by combined fiber-optic pressure measurement and MRI. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 297: G894–G901, 2009.
- Lacroix M, Bos C, Leonil J, Airinei G, Luengo C, Dare S, Benamouzig R, Fouillet H, Fauquant J, Tome D, Gaudichon C. Compared with casein or total milk protein, digestion of milk soluble proteins is too rapid to sustain the anabolic postprandial amino acid requirement. *Am J Clin Nutr* 84: 1070–1079, 2006.
- Lambert BD, Filip R, Stoll B, Junghans P, Derno M, Hennig U, Souffrant WB, Pierzynowski S, Burrin DG. First-pass metabolism limits the intestinal absorption of enteral alpha-ketoglutarate in young pigs. *J Nutr* 136: 2779–2784, 2006.
- Larzabal A, Losada J, Mateos JM, Benitez R, Garmilla IJ, Kuhn R, Grandes P, Sarria R. Distribution of the group II metabotropic glutamate receptors (mGluR2/3) in the enteric nervous system of the rat. *Neurosci Lett* 276: 91–94, 1999.
- Lenz HJ, Hogan DL, Isenberg JI. Intestinal phase of gastric acid secretion in humans with and without portacaval shunt. *Gastroenterology* 89: 791–796, 1985.
- Luscombe-Marsh ND, Smeets AJ, Westerterp-Plantenga MS. The addition of monosodium glutamate and inosine monophosphate-5 to high-protein meals: effects on satiety, and energy and macronutrient intakes. *Br J Nutr* 102: 929–937, 2009.
- MacDonald MJ, Fahien LA. Glutamate is not a messenger in insulin secretion. *J Biol Chem* 275: 34025–34027, 2000.
- Mahe S, Roos N, Benamouzig R, Sick H, Baglieri A, Huneau JF, Tome D. True exogenous and endogenous nitrogen fractions in the human jejunum after ingestion of small amounts of 15N-labeled casein. *J Nutr* 124: 548–555, 1994.
- Martinkova A, Lenhardt L, Mozes S. Effect of neonatal MSG treatment on day-night alkaline phosphatase activity in the rat duodenum. *Physiol Res* 49: 339–345, 2000.

37. **Marzio L, Giacobbe A, Conoscitore P, Facciorusso D, Fruscianti V, Modoni S.** Evaluation of the use of ultrasonography in the study of liquid gastric emptying. *Am J Gastroenterol* 84: 496–500, 1989.
38. **Matthews DE, Marano MA, Campbell RG.** Splanchnic bed utilization of leucine and phenylalanine in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 264: E109–E118, 1993.
39. **Morens C, Bos C, Pueyo ME, Benamouzig R, Gausseres N, Luengo C, Tome D, Gaudichon C.** Increasing habitual protein intake accentuates differences in postprandial dietary nitrogen utilization between protein sources in humans. *J Nutr* 133: 2733–2740, 2003.
40. **Naim M, Ohara I, Kare MR, Levinson M.** Interaction of MSG taste with nutrition: perspectives in consummatory behavior and digestion. *Physiol Behav* 49: 1019–1024, 1991.
41. **Niijima A.** Effects of oral and intestinal stimulation with umami substance on gastric vagus activity. *Physiol Behav* 49: 1025–1028, 1991.
42. **Niijima A.** Reflex effects of oral, gastrointestinal and hepatoportal glutamate sensors on vagal nerve activity. *J Nutr* 130: 971S–973S, 2000.
43. **Niijima A, Togyama T, Adachi A.** Cephalic-phase insulin release induced by taste stimulus of monosodium glutamate (umami taste). *Physiol Behav* 48: 905–908, 1990.
44. **Perlas A, Chan VW, Lupu CM, Mitsakakis N, Hanbidge A.** Ultrasound assessment of gastric content and volume. *Anesthesiology* 111: 82–89, 2009.
45. **Read N, French S, Cunningham K.** The role of the gut in regulating food intake in man. *Nutr Rev* 52: 1–10, 1994.
46. **Reeds PJ, Burrin DG, Stoll B, Jahoor F.** Intestinal glutamate metabolism. *J Nutr* 130: 978S–982S, 2000.
47. **Reeds PJ, Burrin DG, Stoll B, Jahoor F, Wykes L, Henry J, Frazer ME.** Enteral glutamate is the preferential source for mucosal glutathione synthesis in fed piglets. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 273: E408–E415, 1997.
48. **Ricci R, Bontempo I, Corazziari E, La Bella A, Torsoli A.** Real time ultrasonography of the gastric antrum. *Gut* 34: 173–176, 1993.
49. **Shoveller AK, Stoll B, Ball RO, Burrin DG.** Nutritional and functional importance of intestinal sulfur amino acid metabolism. *J Nutr* 135: 1609–1612, 2005.
50. **Sinsky M, Donnerer J.** Evidence for a neurotransmitter role of glutamate in guinea pig myenteric plexus neurons. *Neurosci Lett* 258: 109–112, 1998.
51. **Stegink LD, Filer LJ Jr, Baker GL.** Plasma amino acid concentrations in normal adults fed meals with added monosodium L-glutamate and aspartame. *J Nutr* 113: 1851–1860, 1983.
52. **Stegink LD, Filer LJ Jr, Baker GL.** Plasma glutamate concentrations in adult subjects ingesting monosodium L-glutamate in consomme. *Am J Clin Nutr* 42: 220–225, 1985.
53. **Stoll B, Burrin DG, Henry J, Yu H, Jahoor F, Reeds PJ.** Substrate oxidation by the portal drained viscera of fed piglets. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 277: E168–E175, 1999.
54. **Toyomasu Y, Mochiki E, Yanai M, Ogata K, Tabe Y, Ando H, Ohno T, Aihara R, Zai H, Kuwano H.** Intragastric monosodium L-glutamate stimulates motility of upper gut via vagus nerve in conscious dogs. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 298: R1125–R1135, 2010.
55. **Uchiyama C, Mori M, Tatibana M.** Subcellular localization and properties of N-acetylglutamate synthase in rat small intestinal mucosa. *J Biochem (Tokyo)* 89: 1777–1786, 1981.
56. **Uneyama H, Niijima A, San Gabriel A, Torii K.** Luminal amino acid sensing in the rat gastric mucosa. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291: G1163–G1170, 2006.
57. **Wu G, Borbolla AG, Knabe DA.** The uptake of glutamine and release of arginine, citrulline and proline by the small intestine of developing pigs. *J Nutr* 124: 2437–2444, 1994.
58. **Zai H, Kusano M, Hosaka H, Shimoyama Y, Nagoshi A, Maeda M, Kawamura O, Mori M.** Monosodium L-glutamate added to a high-energy, high-protein liquid diet promotes gastric emptying. *Am J Clin Nutr* 89: 431–435, 2009.
59. **Zolotarev V, Khropycheva R, Uneyama H, Torii K.** Effect of free dietary glutamate on gastric secretion in dogs. *Ann NY Acad Sci* 1170: 87–90, 2009.

3. DISCUSSION

Le but de cette thèse était d'évaluer les effets d'une supplémentation en MSG sur plusieurs paramètres physiologiques et métaboliques. Pour cela nous avons utilisé le modèle expérimental rat et nous avons également réalisé une étude sur volontaires sains. Les principaux effets obtenus sont en rapport avec la physiologie gastro-intestinale et le métabolisme des AA.

3.1. Effets d'une supplémentation en MSG sur la physiologie gastro-intestinale chez le rat et l'Homme

Si l'on s'intéresse aux effets sur la physiologie et les fonctions gastro-intestinales, un résultat potentiellement intéressant est l'augmentation significative de l'aire antrale mesurée par échographie 2h après l'ingestion d'un repas supplémenté en MSG chez l'Homme. A l'inverse chez le rat, aucun effet d'une supplémentation en MSG n'a été mis en évidence sur la vidange gastrique, le péristaltisme intestinal et le transit oro-fécal. Les résultats obtenus chez l'Homme sont différents de ceux obtenus chez le rat mais la méthode de mesure était différente : aire antrale vs. ^{13}C sodium-acétate. En outre, la mesure directe de la masse des contenus de l'estomac chez le rat confirme l'absence d'effet du MSG sur la vidange gastrique dans les conditions expérimentales utilisées. Une autre différence est à noter au niveau de la méthodologie utilisée entre les études rats et Hommes : les doses de MSG utilisées étaient extra-nutritionnelles chez le rat et nutritionnelles chez l'Homme. Il est donc difficile de comparer directement les résultats obtenus car ces différences s'ajoutent aux différences liées aux modèles.

L'augmentation significative de l'aire antrale observée chez l'Homme après ingestion d'un repas supplémenté en MSG est en contradiction avec la seule étude disponible qui a évalué les effets d'une supplémentation en MSG sur la vidange gastrique en utilisant une dose orale de ^{13}C sodium-acétate (Zai, Kusano et al. 2009). Comme brièvement présenté dans la discussion de l'article chez l'Homme, notre étude est très différente de celle de Zai *et al.* de par le mode opératoire (type de repas, concentration en MSG utilisée et méthode de mesure de la vidange gastrique).

Une interprétation plausible pour interpréter l'augmentation de l'aire antrale de l'estomac après ingestion du repas supplémenté en MSG chez l'homme est de considérer que cet agent provoque une augmentation des sécrétions gastriques. Les sécrétions gastriques sont

traditionnellement causées par la présence de nourriture dans l'estomac et peuvent être de trois types : sécrétion d'acide, de pepsinogène (enzyme précurseur de la pepsine qui dégrade les protéines) et/ou de fluides. Peu d'études ont décrit les effets d'une supplémentation en MSG ou glutamate sur les sécrétions gastriques. En 1993, une étude de Vasilevskaia *et al.* a montré que l'ingestion de 2,8g de MSG augmentait et prolongeait la sécrétion de jus gastrique chez le chien (Vasilevskaia, Rymshina *et al.* 1993). Plus récemment, Zolotarev *et al.* ont montré qu'une administration entérale de MSG à forte concentration (100mM 20mL) augmentait significativement la sécrétion d'acide, de pepsinogène et de fluides chez le chien (Zolotarev, Khropycheva *et al.* 2009). Les mécanismes à la base de ces effets ne sont pas connus. Il a été montré que le granisétron, un antagoniste des récepteurs 5HT3 (récepteurs à la sérotonine), permettait d'atténuer l'augmentation des sécrétions gastriques induites par le MSG (Khropycheva, Uneyama *et al.* 2009). Les récepteurs 5HT3 pourraient donc partiellement arbitrer les effets du MSG sur les sécrétions gastriques.

Enfin, on peut se demander pourquoi une augmentation de l'aire antrale induite par le MSG n'a pas eu d'effet sur les sensations de faim et de satiété chez l'Homme. La satiété est associée à l'arrêt de la sensation de faim, qui se développe une fois le repas terminé (Capasso and Izzo 2008). Tout d'abord, nos résultats sont similaires à la seule étude qui a suivi les effets du MSG (0,6%) ajouté à un repas hyperprotéique sur la satiété et les concentrations circulantes en hormones chez l'Homme (Luscombe-Marsh, Smeets *et al.* 2009). Cette étude n'a montré aucun effet du MSG sur ces paramètres. Ensuite, les modifications de volume gastrique ne sont pas les seules composantes qui interviennent dans les sensations de faim et satiété après un repas. En effet, un autre paramètre est la concentration en hormones gastro-intestinales (GLP-1 et ghréline) où nous n'avons observé aucune différence significative des concentrations de ces hormones sous MSG. Malgré un modèle d'étude croisé, notre étude a probablement un relativement faible pouvoir pour détecter des changements subtils au niveau des sensations. En effet, les échelles analogiques visuelles représentent une technique avec de hautes variabilités interindividuelles. La plupart des études utilisant cette technique ont un nombre de sujets plus importants (n=56) (Potier, Fromentin *et al.* 2010) que le nombre de sujets recrutés pour notre étude. L'augmentation de l'aire antrale induite par le MSG est donc selon toute vraisemblance un paramètre nécessaire mais non suffisant de l'induction de la satiété. De plus, la mesure de la distension gastrique peut être un marqueur physiologique du rassasiement (de Graaf, Blom *et al.* 2004). Le rassasiement est la sensation de pléthore gastrique qui initie l'arrêt de la prise alimentaire. Il commence dès le début du repas et augmente pour faire place à la sensation de satiété une fois le repas terminé. L'augmentation

de l'aire antrale de l'estomac est connue pour avoir un effet sur le rassasiement mais nous n'avons pas mesuré ce dernier paramètre.

3.2.Effets du MSG sur le métabolisme des acides aminés chez le rat et l'Homme

Le L-glutamate étant à la fois un précurseur pour la formation d'autres AA et un régulateur métabolique (par lui-même et via la synthèse de métabolites comme le N-acétylglutamate), nous avons étudié les effets d'une supplémentation en MSG sur les concentrations circulantes d'AA à la fois chez le rat et chez l'Homme. Chez l'Homme, l'effet de la supplémentation en MSG sur l'aire antrale était concomitant d'une augmentation significative des concentrations circulantes de leucine, isoleucine, cystéine, tyrosine, ornithine et glutamate sur la base de la mesure des aires sous la courbe. Un résultat intéressant obtenu chez le rat mais pas chez l'homme est l'augmentation de la glutamine circulante (mais uniquement de cet AA) après supplémentation en MSG.

Une augmentation des concentrations circulantes en AA dans nos études est le résultat net de nombreux phénomènes complexes incluant l'absorption et le métabolisme intestinal, le métabolisme hépatique, le métabolisme dans les autres tissus, les phénomènes d'épargne métabolique, l'excrétion dans les urines et la synthèse/dégradation protéique. De plus les concentrations en AA ont été déterminées dans le plasma et non dans les érythrocytes. Ces concentrations peuvent contribuer à un transfert interorgane des AA (Felig, Wahren et al. 1973). Cependant, bien que les concentrations en AA soient élevées dans les érythrocytes, il est généralement considéré que les échanges avec le plasma sont lents ; et donc ce pool intracellulaire contribuerait faiblement aux flux interorganes. Il a été montré que les concentrations en glutamate dans les érythrocytes étaient beaucoup plus élevées que les concentrations plasmatiques (Tsai and Huang 2000). Il est donc délicat de proposer des mécanismes explicatifs par rapport aux variations observées de concentration des AA circulants. On peut néanmoins formuler quelques hypothèses en perspective de futurs travaux. L'intestin est un consommateur important de glutamine, de glutamate et d'aspartate qu'il utilise en particulier en tant que substrats oxydatifs. Comme rappelé dans l'introduction, la transamination du glutamate dans l'intestin produit de l'alanine et de l'aspartate. Les entérocytes produisent aussi de l'ornithine, de la citrulline et de la proline après conversion du L-glutamate en L-glutamyl semialdéhyde dans les mitochondries des entérocytes (Blachier, Boutry et al. 2009). L'arginine, comme la glutamine est aussi un précurseur d'ornithine et de

citrulline dans les entérocytes. D'après des données bibliographiques récentes, il apparaît que certains AA indispensables n'échapperaient pas non plus au catabolisme intestinal. En effet, les AA ramifiés (leucine, isoleucine et valine) semblent substantiellement dégradés dans les entérocytes (Chen, Li et al. 2009). L'intestin synthétise des glycoprotéines particulières comme les mucines et cela engendre des besoins élevés en certains AA comme la thréonine : 50% de la thréonine alimentaire est retenue par l'intestin (Wang, Zeng et al. 2010). Les AA non catabolisés et ceux produits par l'intestin au départ des AA provenant des protéines alimentaires et endogènes sont ensuite libérés dans la veine porte et acheminés vers le foie. Ils y sont métabolisés ou libérés dans la circulation générale. Le métabolisme intestinal modifie profondément la disponibilité de nombreux AA alimentaires pour le reste de l'organisme. Une autre source d'AA libres dans la circulation sanguine est la dégradation protéique au niveau des tissus (Le Floch and Seve 2000). Enfin, la synthèse *de novo* d'AA non indispensables peut dans certain cas faire varier les concentrations circulantes en AA. Par exemple, le rein est capable de synthétiser de l'arginine à partir de citrulline libérée par l'intestin (Moinard and Cynober 2007; van de Poll, Siroen et al. 2007). Ensuite, l'arginine produite est quasiment totalement libérée dans la circulation sanguine pour être utilisée pour la synthèse protéique en grande majorité, mais aussi à un niveau quantitativement beaucoup plus limité, pour la synthèse d'autres métabolites (NO, polyamines,...).

Chez l'Homme, nous avons observé que l'ingestion de MSG augmente les concentrations circulantes des AA ramifiés. Cet effet a déjà été montré lors d'études sur l'animal (Janeczko, Stoll et al. 2007). Récemment, il a été montré une dégradation des AA ramifiés dans des entérocytes isolés de porc qui était stimulée par l' α -cétooglutarate (Chen, Li et al. 2009). Le L-glutamate ingéré pourrait par un simple phénomène d'action de masse limiter le flux de leucine à travers la première étape du catabolisme de cet AA catalysée par la leucine transaminase. Le même raisonnement peut être fait en ce qui concerne l'isoleucine puisque la première étape de dégradation dans les entérocytes impliquerait les activités transaminases avec conversion de l' α -cétooglutarate en glutamate et production respectivement de l'acide α -cétoisovalérique et de l'acide α -céto- β -méthyl valérique. Ce type de réaction est possible à la fois dans l'intestin et le foie. La contribution du foie dans ce processus est probablement plus faible que dans l'intestin compte tenu des plus fortes concentrations de glutamate dans le contenu luminal que dans le sang porte suite à l'ingestion de MSG par les volontaires. Par contre, il n'a pas été observé une augmentation des AA ramifiés après administration d'une large dose de MSG chez l'Homme (Stegink, Filer et al. 1983). De

nouvelles expériences *in vivo* et *in vitro* sont nécessaires pour confirmer ou infirmer cette hypothèse. L'augmentation de l'aire sous la courbe en ce qui concerne le glutamate après ingestion de MSG suggère qu'à la dose de MSG utilisée, une partie du glutamate échappe aux voies cataboliques des entérocytes lors du passage de la lumière vers le sang à travers les cellules épithéliales intestinales. De même, l'augmentation de l'aire sous la courbe en ce qui concerne l'ornithine (non contenue dans les protéines) suggère que le glutamate du MSG puisse servir de précurseur à la synthèse d'ornithine *in vivo* chez l'homme. Enfin, puisque le catabolisme de la cystéine et de la tyrosine implique une réaction de transamination par la cystéine transaminase et la tyrosine transaminase avec respectivement conversion de l' α -cétoglutarate en glutamate (Blachier, Boutry et al. 2009) ; il est concevable que le glutamate puisse participer à l'effet d'épargne de ces AA. Concernant la tyrosine, cet AA n'est que très peu dégradé par l'intestin chez le porc (Wu, Borbolla et al. 1994). Par contre, les entérocytes isolés ont la capacité de cataboliser la cystéine. Ces résultats *in vitro* sont corroborés par des résultats *in vivo* qui montrent une faible apparition de cystéine dans la veine porte par rapport au contenu en cystéine dans les protéines alimentaires (Coloso and Stipanuk 1989). Par contre, aucune augmentation significative de l'aire sous la courbe n'est observée en ce qui concerne la glutamine après supplémentation des volontaires en MSG.

Chez le rat, une supplémentation chronique en MSG augmentait significativement et de manière relativement marquée la concentration circulante en glutamine 2h après l'ingestion d'un repas. Comme expliqué dans la discussion de l'article chez le rat, cette augmentation peut être reliée au moins en partie à une augmentation de l'activité glutaminase dans la muqueuse intestinale et à un effet d'épargne du glutamate sur la glutamine dans les entérocytes.

Au cours de cette thèse, nous avons constaté plusieurs différences de réponse à la supplémentation en MSG chez le rat et chez Homme sur le métabolisme des AA. Tout d'abord, ces différences peuvent être dues au fait que les doses de MSG testées sont différentes (rapportées à la masse corporelle) entre les expériences sur rat et les expériences sur volontaires humains. De plus, il existe des différences au niveau des méthodes utilisées dans le modèle rat et chez les sujets humains. En effet, les concentrations en AA ont été mesurées seulement 2h après l'ingestion d'un repas chez le rat alors que les différences chez l'Homme étaient observées à partir de 1h après le repas. Ensuite, les différences obtenues peuvent être expliquées par le modèle lui-même. Le métabolisme des AA dans l'intestin a été largement étudié *in vitro* dans des entérocytes isolés de porcs et de porcelets (Ashy, Salleh et al. 1988; Coloso and Stipanuk 1989; Blachier, Darcy-Vrillon et al. 1991; Wu, Knabe et al.

1994; Guihot, Blachier et al. 1997; Le Bacquer, Nazih et al. 2001; Chen, Li et al. 2009) et *in vivo* dans ce modèle (Reeds, Burrin et al. 1996; Reeds, Burrin et al. 1997; Blachier, Guihot-Joubrel et al. 1999; Stoll, Burrin et al. 1999; Janeczko, Stoll et al. 2007). Il existe moins d'études sur le métabolisme des AA chez le rat et très peu chez l'Homme. La plupart des études ont été réalisées chez le porcelet et sur des animaux sevrés. Le porcelet est considéré par de nombreux auteurs comme un modèle avec des applications en pédiatrie. Compte tenu du peu de données disponibles sur entérocytes humains, on peut se demander si le métabolisme des AA est identique dans ces différents modèles. Il a été montré que les AA ramifiés (leucine, isoleucine et valine) étaient bien dégradés dans les entérocytes de l'intestin grêle chez le porc (Wu 1998). De plus l'intestin est l'organe majeur pour l'utilisation de glutamine chez le porc (Wu, Borbolla et al. 1994) et chez le rat (Windmueller 1982). Chez le rat, l'intestin utilise largement le glutamate, la glutamine, l'aspartate et l'arginine (Windmueller 1982). Chez l'Homme, 38% de l'arginine alimentaire (Castillo, Chapman et al. 1993) et 20 à 30% de la leucine délivrée par voie entérale sont utilisés au premier passage par l'aire splanchnique (Biolo, Tessari et al. 1992). Des études supplémentaires sont nécessaires pour connaître les différences au niveau du métabolisme des AA entre les espèces. Au cours de cette thèse, l'effet d'épargne du MSG sur la glutamine observé chez le rat n'a pas du tout été observé chez l'Homme. On peut supposer que la quantité de MSG ingérée était trop faible pour augmenter suffisamment la concentration du glutamate dans la lumière intestinale et inhiber l'activité de la glutaminase dans les mitochondries des entérocytes. En effet, Graham *et al.* ont montré, chez le volontaire sain, une augmentation significative de la concentration en glutamine 45 et 75min après une large dose de MSG (4,5 fois plus de MSG que notre étude) ingérée avec de l'eau (Graham, Sgro et al. 2000).

En plus de l'effet d'une supplémentation en MSG sur les concentrations circulantes en AA, il est intéressant de comparer les effets du MSG sur les concentrations en glutamate circulant dans le modèle rat et chez les volontaires sains. Chez le rat 2h après le repas, il n'y avait pas de modifications des concentrations circulantes en acide glutamique après une forte dose de MSG. Ce qui est similaire à de nombreuses études qui ont montré que le glutamate était largement métabolisé (98% et 95%) par la muqueuse de l'intestin grêle au premier passage chez le rat (Windmueller and Spaeth 1975) et chez le porc (Reeds, Burrin et al. 1996) respectivement. De manière similaire, entre 88 et 96 % du glutamate délivré par voie entérale est extrait au premier passage par l'aire splanchnique chez l'Homme (Matthews, Marano et al. 1993; Battezzati, Brillon et al. 1995). Par contre dans notre étude chez l'Homme, alors que la supplémentation en MSG était relativement moins importante par rapport à notre étude chez

le rat, l'aire sous la courbe de la concentration en glutamate était plus grande après supplémentation en MSG par rapport au groupe contrôle NaCl. On peut donc se demander si le glutamate à la dose nutritionnelle utilisée est totalement oxydé au premier passage chez l'Homme. Il existe une différence de méthodologie entre les études de Matthews et Battezzati et la notre : ils ont suivi l'administration de ^{13}C glutamate alors que nous avons observé les effets du MSG sur les concentrations circulantes en acide glutamique. D'autres études ont montré que l'administration d'une large dose de MSG entraînait une augmentation transitoire des concentrations circulantes en acide glutamique chez le porc (Blachier, Guihot-Joubrel et al. 1999; Janeczko, Stoll et al. 2007) et chez l'Homme (Stegink, Filer et al. 1983; Stegink, Filer et al. 1985; Thomassen, Nielsen et al. 1991). Même si sur la base de la mesure des aires sous la courbe, on peut constater que les augmentations de la concentration en glutamate circulant est modeste, notre étude est à ce jour la première qui rapporte une augmentation des concentrations circulantes en acide glutamique après ingestion d'une dose nutritionnelle de MSG.

3.3. Autres effets du MSG chez le rat et l'Homme

Ce travail a aussi porté sur les effets du MSG sur le métabolisme protéique. Chez l'Homme, le devenir de l'azote alimentaire n'était pas différent avec ou sans supplémentation en MSG ; tout comme chez le rat où il n'y a pas eu d'effets du MSG sur les contenus en protéines, l'incorporation de l'azote alimentaire, les taux de synthèse et de dégradation protéique. Notre étude était la première à explorer un éventuel effet du MSG sur le métabolisme azoté.

Concernant les sécrétions pancréatiques endocrines, chez le rat, il a été observé une augmentation transitoire des concentrations plasmatiques en insuline. Les études sont un peu contradictoires à ce sujet mais nombreuses sont celles qui ont montré des résultats similaires (Niiijima, Togyama et al. 1990; Bertrand, Puech et al. 1995; Hoy, Maechler et al. 2002). L'insuline est sécrétée par les îlots de Langerhans du pancréas directement dans la circulation sanguine, puis elle agit au niveau des différents tissus-cibles. Cette augmentation des concentrations plasmatiques en insuline est donc probablement principalement le reflet d'une augmentation de la sécrétion d'insuline. Il a été montré que la sensibilité à l'insuline est associée à des changements de sécrétion d'insuline qui, eux-mêmes, augmente lorsque la sensibilité à l'insuline est diminuée (Waldhausl 1992). La sensibilité de l'organisme à l'insuline n'a pas été déterminée dans cette étude et, au mieux de nos connaissances, aucune

étude n'a, à ce jour, montré les effets d'une supplémentation en MSG sur la sensibilité de l'organisme à l'insuline. Par contre, notre étude chez l'Homme n'a pas montré d'effets du MSG sur les concentrations plasmatiques d'insuline. Les différences de résultats obtenues entre le rat et l'Homme peuvent être dues à la dose de MSG qui était nettement plus élevée chez le rat lorsque rapportée à la masse corporelle. En effet, les seules études publiées montrant un effet sont des études où l'administration n'était pas physiologique (intraveineuse) et à très forte dose (Thomassen, Nielsen et al. 1991; Fernstrom, Cameron et al. 1996). Une autre explication peut être liée à l'effet d'épargne du glutamate sur la glutamine chez le rat. La glutamine est connue pour son effet sécrétagogue sur l'insuline, tout comme d'autres AA (arginine et lysine par exemple) (Newsholme, Bender et al. 2007). En effet, la glutamine est connue pour stimuler la sécrétion d'insuline ; une augmentation des concentrations circulantes en glutamine observées chez le rat pourrait donc entraîner une augmentation transitoire de l'insuline circulante.

Enfin, des études ont montré que le MSG pouvait augmenter la prise alimentaire et le gain de poids mais ces résultats restent controversés dans la mesure où ils ont été obtenus dans des protocoles expérimentaux très éloignés des conditions physiologiques habituelles. Dans nos conditions expérimentales, le MSG à la dose utilisée (2%) n'avait pas d'effet sur le gain de poids après 15 jours de supplémentation chez le rat et 7 jours chez l'Homme. La masse des tissus adipeux et la concentration plasmatique en leptine n'étaient pas modifiées chez le rat, arguant contre un effet du MSG administré de manière chronique sur la prise de poids et l'obésité.

3.4.Aspects méthodologiques

3.4.1. Notions de doses nutritionnelles et extra-nutritionnelles en MSG

Dans la littérature, les doses de MSG utilisées pour les études varient considérablement d'une publication à l'autre. Le tableau 9 récapitule les différentes études citées au cours de cette thèse et les doses utilisées pour ces études. Souvent celles-ci sont éloignées des données de consommation de MSG par l'Homme. De plus, dans plusieurs études, l'administration de glutamate ou de MSG n'est pas du tout physiologique. Il est important de prendre en compte la manière dont la molécule testée est administrée. En effet, si l'administration est parentérale, les effets seront beaucoup plus marqués à dose égale que si l'administration est orale ou intragastrique. Comme présentée dans l'introduction bibliographique, la consommation de MSG varie en fonction de la zone géographique et de l'individu lui-même (en fonction de son

Tableau 9 : Doses utilisées au cours des études *in vivo* sur les effets du glutamate ou du MSG. Valeurs de référence : consommation dans le Monde entre 1 et 4g soit entre 17 et 67 mg/kgPC pour une personne de 60kg. PC : poids corporel

Références	Modèle	Type de glutamate	Dose de MSG		Administration
Battezzati, Brillon <i>et al.</i> , 1995	Homme	¹³ C glutamate	15,2 µmol/kg + 18,5 µmol/kg	0,037 mg/kgPC 0,045 mg/kgPC	Intraveineuse + Naso-gastrique
Bertrand, Puech <i>et al.</i> , 1995	Rat nourri	Glutamate	9 mg/kg 200 mg/kg	9 mg/kgPC 200 mg/kgPC	Intraveineuse Intra-gastrique
Blachier, Guihot-Joubrel <i>et al.</i> , 1999	Porc	MSG	10 g	167 mg/kgPC	Avec un repas standard
Boutry, Bos <i>et al.</i>, 2011	Rat	MSG	0,5 g	1 295 mg/kgPC	Avec repas standard
Boutry, Matsumoto <i>et al.</i>, 2011	Homme	MSG	2 g	28 mg/kgPC	Avec repas standard
Chevassus, Renard <i>et al.</i> , 2002	Homme	MSG	10 g	167 mg/kgPC	Orale avec dose de glucose
Fernstrom 2000	Homme	MSG	12,7 g	212 mg/kgPC	Orale avec jus de fruit
Graham, Sgro <i>et al.</i> , 2000	Homme	MSG	150 mg/kg	150 mg/kgPC	Orale avec de l'eau
Hays, Ordenez <i>et al.</i> , 2007	Enfants prématurés	¹³ C glutamate	2,4 et 4,8 µmol/kg/min sur 1,5 h et 5 h	3 fois la dose normale	Infusion intra-gastrique
Hirata, Andrade <i>et al.</i> , 1997	Rat nouveau né	MSG	4 g/kg	4000 mg/kg	Injection
Janeczko, Stoll <i>et al.</i> , 2007	Porc de 7kg	¹³ C glutamate	250, 350, ou 400 % de l'apport normal en glutamate		Intra-duodéal et intra-gastrique
Kenney, Tidball <i>et al.</i> , 1972	Homme	MSG	1 à 20 g	17 à 333mg.kgPC	Orale
Kondoh, Torii <i>et al.</i> , 2008	Rat en croissance	MSG	1 %	1125 mg/kgPC	Dilué dans de l'eau
Luscombe-Marsh, Smeets <i>et al.</i> , 2009	Homme	MSG	0,6 % poids/poids	36 mg/kgPC	Avec repas hyperprotéique
Matthews, Marano <i>et al.</i> , 1993	Homme	¹⁵ N glutamate	1,2 + 5 µmol/kg/h sur 3,5h 10 µmol/kg/h sur 3,5h	2,8 mg/kgPC 5,1 mg/kgPC	Intraveineuse + Naso-gastrique
Niijima 2000	Rat	MSG	150 mmol/L 3mL 10 mmol/L 0,1mL	254 mg/kgPC 0,6 mg/kgPC	Infusion intestinale Injection intraportale
Olney, Sharpe <i>et al.</i> , 1969	Jeune singe	MSG	500 mg/kgPC	500 mg/kgPC	Injection sous cutanée
Reeds, Burrin <i>et al.</i> , 1996	Porc	¹³ C glutamate	30 µmol/kg/h sur 5h	22 mg/kgPC	Intra-gastrique
Stegink, Filer <i>et al.</i> , 1973	Porc nouveau-né	MSG	1 g/kgPC	1000 mg/kgPC	Tube dans l'estomac
Stegink, Filer <i>et al.</i> , 1983	Homme	MSG	150 mg/kgPC	150 mg/kgPC	Avec un milk shake pendant le repas
Stegink, Filer <i>et al.</i> , 1985	Homme	MSG	25 et 50 mg/kgPC	25 et 50mg/kgPC	
Stoll, Burrin <i>et al.</i> , 1999	Porc	¹³ C glutamate	33 µmol/kg/h sur 5h	24 mg/kgPC	Intra-gastrique
Soares, Schoffen <i>et al.</i> , 2006	Rat nouveau-né	MSG	4 mg/gPC/j x 5j		Injection sous cutanée
Tarasoff et Kelly 1993	Homme	MSG	1,5 à 3,15 g	15 et 70mg/kgPC	Avant petit déjeuner standard
Thomassen, Nielsen <i>et al.</i> , 1991	Homme	MSG	1, 2, 2,5 ou 5 mg/kgPC	Intraveineuse	
Tomoe, Inoue <i>et al.</i> 2009	Personne âgée	MSG	0,5% 3 fois/j	42 mg/kgPC	Avec du riz
Toyama, Tomoe <i>et al.</i> 2008	Personne âgée	MSG	0,5% 3 fois/j	42 mg/kgPC	Avec du riz
Toyomasu, Mochiki <i>et al.</i> , 2010	Chien	MSG	5, 15, 45 et 90 mM/kg	34, 101, 304 et 608 mg/kgPC	Intra-gastrique et intra-duodéal
Tsai et Huang 1999	Homme	MSG	100 mg/kg/j	100 mg/kgPC	Avec repas (en 3 fois)
Zai, Kusano <i>et al.</i> , 2009	Homme	MSG	0,5% poids/vol	33 mg/kgPC	Avec repas hyper-énergétique et hyperprotéique
Zolotarev, Khropycheva <i>et al.</i> , 2009	Chien	MSG	10, 50 et 100 mM 20mL	12 mg/kgPC	Infusion gastrique

type d'alimentation). La consommation de MSG dans le Monde est comprise entre 1 (pays européens) et 4g/j (pays asiatiques). L'éventail de consommation est donc large en fonction des régions géographiques.

Pour notre étude chez l'Homme, nous avons choisi une dose de 2g/j de MSG (28mg/kgPC/j) qui est compris dans la gamme des consommations dans les différentes régions du Monde. Nous voulions à la fois étudier les effets d'une supplémentation en MSG à des doses nutritionnelles et avec une administration physiologique (ingéré avec le repas).

Pour notre étude chez le rat, les animaux ont ingéré du MSG à hauteur de 2%. Les rats ingéraient en moyenne 25g d'aliments secs par jour donc 0,5g/j de MSG pour un rat de 386g en moyenne. Ils ont donc reçu 1 295 mg/kgPC/j c'est-à-dire entre 20 et 40 fois plus que la consommation chez l'Homme. Mais il a été montré que l'acide glutamique était bien toléré par les rats à une concentration haute de 5% et probablement jusqu'à 10% (Harper, 1970) dans une alimentation à concentration faible à modérée de protéines. Une légère dépression de la croissance a été observée avec 10 à 20% d'acide glutamique. La dose de 2% n'est donc pas si extra-nutritionnelle que ça pour le rat et n'a eu aucun effet délétère détectable sur les animaux sur la base des paramètres mesurés.

3.4.2. Mesure de la vidange gastrique

Une différence importante entre les études est la méthode de mesure de la vidange gastrique. Il existe différentes méthodes de mesure chez l'Homme et chacune possède des avantages et des limites. Le choix de la méthode dépend du repas étudié (solide ou liquide), du taux de précision requis, du degré d'invasion que les sujets peuvent tolérer, des considérations éthiques, du matériel et des infrastructures disponibles (Maughan and Leiper 1996). La scintigraphie est la méthode de référence (« gold standard ») pour la mesure de la vidange gastrique et permet de suivre la vidange de repas solide et liquide. Elle consiste en l'administration d'un traceur (isotope radioactif) qui permet de détecter des rayonnements et de produire une image médicale. C'est une méthode directe et non invasive mais elle est limitée du fait de l'exposition à des radiations et du besoin en équipements coûteux. Un point intéressant est que son utilisation est validée pour les petits animaux (Szarka and Camilleri 2009). Une autre méthode est l'utilisation d'isotope stable dans des tests respiratoires et c'est une méthode alternative non radioactive. Le ^{13}C -octanoate (^{13}C -spirulina) peut être incorporé dans des repas solides (Bromer, Kantor et al. 2002) alors que le ^{13}C -acétate et le ^{13}C -glycine peuvent être ajoutés à des repas liquides (Sanaka, Urita et al. 2006) pour suivre la vidange

gastrique. Si on veut suivre la vidange de repas solide et liquide, il est possible de marquer une phase du repas au ^{14}C et une autre au ^{13}C (Maes, Ghooos et al. 1994). Les isotopes stables ne sont pas absorbés par l'estomac et sont rapidement absorbés par l'intestin grêle puis métabolisés (Sanaka, Yamamoto et al. 2008). Après ingestion d'un repas marqué, celui-ci est vidangé par l'estomac, digéré, absorbé par l'intestin grêle proximal, métabolisé par le foie et excrété par les poumons. Finalement, le $^{13}\text{CO}_2$ est libéré comme produit terminal du métabolisme et expiré (Braden, Lembcke et al. 2007). L'enrichissement en $^{13}\text{CO}_2$ peut donc être mesuré par spectrométrie de masse haute-résolution après récupération des gaz expirés. Enfin, l'échographie peut fournir des informations quantitatives sur la motricité gastrique incluant la vidange gastrique. Cette méthode est parfois utilisée pour évaluer la vidange gastrique en se basant sur les changements dynamiques de l'aire antrale de l'estomac. Des études ont montré que la mesure de l'aire antrale par échographie après l'ingestion d'un repas test est une méthode qui peut permettre de suivre la vidange gastrique (Bateman and Whittingham 1982; Bolondi, Bortolotti et al. 1985; Holt, Cervantes et al. 1986). La mesure spécifique de l'aire antrale permet de détecter des variations au niveau du volume gastrique (Ricci, Bontempo et al. 1993; Perlas, Chan et al. 2009). Elle a des avantages majeurs car elle est non invasive, facilement disponible, a un coût faible et il n'y a pas utilisation d'isotopes radioactifs. Cette méthode n'est cependant pas applicable sur les petits animaux.

Les méthodes nous intéressant pour cette thèse sont le test respiratoire et l'échographie. On peut se demander quelles sont les différences entre l'échographie et le suivi de l'excrétion de $^{13}\text{CO}_2$ et s'il existe réellement une relation directe entre la distension antrale et la vidange gastrique. Les tests respiratoires et l'échographie pour la mesure de la vidange gastrique ont été comparés avec la scintigraphie. Dans les études comparant les tests respiratoires effectués simultanément avec la scintigraphie, les tests respiratoires fournissent une estimation juste de la vidange gastrique à la fois avec des repas solides (Lee, Camilleri et al. 2000) et liquides (Sanaka, Urita et al. 2006). Une corrélation entre les mesures par scintigraphie de la vidange gastrique de liquide et l'aire antrale mesurée par échographie a déjà été rapportée (Hveem, Jones et al. 1996). Une estimation du temps de demi vidange par échographie est fortement corrélée à des résultats obtenus avec la scintigraphie (Szarka and Camilleri 2009). Malheureusement, aucune étude n'a comparé la mesure de la vidange gastrique par test respiratoire et par échographie. Il est donc difficile de savoir si la mesure des modifications de l'aire antrale reflète réellement la vidange gastrique. Dans nos expériences, nous n'avons observé aucun effet du MSG au niveau de la mise à disposition des AA alimentaires (reflet de la vitesse de vidange gastrique), ni au niveau des concentrations de deux hormones gastro-

intestinales (GLP-1 et ghréline), qui interviennent dans la régulation de la vidange gastrique (Hellstrom, Gryback et al. 2006).

IV. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Les effets du monosodium glutamate (MSG), un exhausteur de goût largement utilisé par les industries agro-alimentaires et dont la consommation ne cesse de progresser, ont été relativement peu étudiés chez l'homme en particulier lorsque le MSG est consommé à des doses nutritionnelles ou proches des doses nutritionnelles. L'objectif de ce travail était d'étudier les effets d'une supplémentation en MSG sur de nombreux paramètres physiologiques et en particulier la prise alimentaire, le gain de poids et la composition corporelle, la physiologie et les fonctions gastro-intestinales, le métabolisme protéique, les sécrétions pancréatiques, les concentrations en AA et le métabolisme de la glutamine.

Les principaux résultats obtenus au cours de cette thèse ont montré que chez les volontaires sains, le MSG provoquait une augmentation de l'aire antrale de l'estomac qui pourrait être expliquée par une augmentation des sécrétions gastriques après supplémentation en MSG sans modification détectable de la vidange gastrique sur la base de la mesure du métabolisme postprandial des AA alimentaires. Chez le rat, nous n'avons pas observé de modification de la vitesse de vidange gastrique sous MSG. Par contre, pour des raisons techniques, nous n'avons pas mesuré les modifications de l'aire antrale sous MSG chez le rat. Une augmentation significative des concentrations circulantes en glutamine a été observée après supplémentation en MSG probablement en lien avec à une diminution de l'activité glutaminase dans la muqueuse intestinale et à l'inhibition de son activité catalytique par le glutamate luminal. De plus, chez l'Homme, un résultat intéressant est l'augmentation significative des AA ramifiés et de certains AA indispensables après une ingestion nutritionnelle de MSG.

D'après ces résultats, il serait intéressant d'observer les effets du MSG dans des situations où les concentrations circulantes en certains AA ont tendance à être abaissées. Tout d'abord, les effets d'une supplémentation en MSG chez des rats endotoxémiques après injection de lipopolysaccharides (LPS) bactériens pourraient être observés. Les LPS participent à l'initiation du choc septique en lien avec une augmentation du nombre de bactéries Gram-négative chez la plupart des patients (Opal 2010). Au cours d'une endotoxémie, il a été observé des modifications au niveau du métabolisme protéique (Biolo, Toigo et al. 1997), de l'immunité (Martich, Boujoukos et al. 1993) mais aussi au niveau du métabolisme de la glutamine. En effet, la glutamine est libérée par le muscle durant une septicémie ou une endotoxémie. Le besoin en glutamine au niveau hépatique peut être accru et les taux circulants en glutamine peuvent diminuer lors d'états cataboliques (Oudemans-van Straaten, Bosman et al. 2001). La glutamine est parfois considérée comme un AA

conditionnellement essentiel lors d'états cataboliques. L'administration de glutamine en solution n'est pas sans poser de problème. En premier lieu, la glutamine est relativement peu soluble dans l'eau (à 20°C seulement 36g/L). Deuxièmement, la glutamine est peu stable en solutions aqueuses (11 jours) (Hardy, Bevan et al. 1993; Cardona Pera 1998). Cependant, des dipeptides de la glutamine (par exemple L-glycyl-glutamine et L-alanyl-glutamine) qui sont plus solubles et plus stables, ainsi que des précurseurs de la L-glutamine (ornithine et α -cétoglutarate) peuvent être utilisés. L'augmentation des concentrations circulantes en glutamine après supplémentation en MSG chez le rat (article 1) suggère que le glutamate luminal puisse permettre une épargne partielle de l'utilisation de la glutamine au niveau intestinal. Cependant, il convient de rappeler que dans notre étude chez l'homme, aucune modification décelable des concentrations circulantes de glutamine n'a pu être observée après ingestion d'une dose nutritionnelle de MSG (article 2). Une étude en 1999 a évalué l'effet de l'administration par voie entérale d'un repas enrichi en L-glutamate (4g/kg/j) chez des rats endotoxémiques (injection intrapéritonéale de LPS à 3mg/kg de PC) par rapport à des rats endotoxémiques recevant de la glycine (équivalent iso-azoté) et à des rats sains (Chambon-Savanovitch, Farges et al. 1999). Les auteurs ont observé dans ce modèle expérimental une augmentation des concentrations en L-glutamate dans l'intestin et le foie chez les rats endotoxémiques supplémentés en L-glutamate. De manière notable, les concentrations en glutamine étaient plus élevées dans le plasma, le jéjunum et le foie chez les rats endotoxémiques supplémentés en L-glutamate.

Ensuite un résultat obtenu au cours de cette thèse est l'augmentation des concentrations circulantes en leucine après supplémentation en MSG chez l'Homme. La leucine est connue pour être un AA « signal » notamment pour sa capacité à augmenter les taux de synthèse protéique dans le muscle (Anthony, Anthony et al. 2000). Chez l'homme, Katsanos *et al.* ont montré que la synthèse protéique musculaire peut être augmentée après consommation d'une mixture d'AA indispensables (6,7g) si elle contenait une large proportion de leucine (2,8 g), tandis que la même mixture d'AA indispensables était inefficace avec une proportion plus faible de leucine (1,7g) (Katsanos, Kobayashi et al. 2006). Ces résultats ont été confirmés par Rieu *et al.* qui rapportent des taux de synthèse protéique musculaire plus élevés après l'ingestion d'une alimentation supplémentée en leucine (4 g) chez des personnes âgées (Rieu, Balage et al. 2006) Cette étude est la première à mettre en évidence une augmentation des concentrations circulantes en leucine qui pourrait favoriser la synthèse protéique musculaire. Contrairement à ces 2 études, une supplémentation de 7,5 g n'a pas eu d'effet sur la masse et la force musculaire chez des personnes âgées (Verhoeven, Vanschoonbeek et al. 2009). Il

serait intéressant de supplémenter des personnes âgées en MSG et d'observer les effets du MSG sur les concentrations circulantes de leucine et les taux de synthèse protéique musculaire. En effet, il a été montré qu'une infusion de leucine seule augmentait les concentrations circulantes en leucine, mais diminuait celles en AA indispensables (Hagenfeldt, Eriksson et al. 1980; Tom and Nair 2006). Cet effet était plus prononcé pour l'isoleucine et la valine à cause du phénomène d'antagonisme des AA branchés (Harper, Miller et al. 1984). Rieu *et al.* ont palié cet effet en supplémentant les sujets, en plus de la leucine, avec de l'isoleucine et de la valine (Rieu, Balage et al. 2006). Une supplémentation en MSG pourrait donc à la fois augmenter les concentrations circulantes en leucine et isoleucine sans diminuer celles en AA indispensables chez les personnes âgées. De plus, il a été montré que l'extraction splanchnique au premier passage de la leucine augmentait avec l'âge (Young 1990). Donc, s'il y a une utilisation plus importante des AA par l'aire splanchnique chez les personnes âgées, la disponibilité des AA alimentaires pour les tissus périphériques, incluant le muscle, pourrait être réduite. La réponse de l'anabolisme protéique musculaire à une supplémentation en AA serait perturbée. L'étude de l'effet d'épargne éventuel du MSG sur le catabolisme de la leucine au niveau splanchnique par traceurs intraveineux et entéral (per os) (leucine marquée au deutérium /per os et au ^{15}N / entéral ou le contraire) pourrait être envisagée. L'intérêt des traceurs isotopiques est le suivant : la leucine provenant de l'alimentation et la leucine produite de novo sont marquées avec deux isotopes différents et donc peuvent être différenciées.

De plus, des études afin de comprendre les mécanismes à la base des effets du MSG seraient nécessaires. L'utilisation d'antagonistes aux récepteurs au glutamate pourrait permettre d'établir leurs rôles éventuels sur les effets physiologiques du MSG.

Afin d'étudier l'effet éventuel d'épargne du glutamate sur le métabolisme des acides aminés dans les cellules épithéliales intestinales, l'utilisation de traceurs radioactifs pourrait être envisagée sur des cellules isolées.

ANNEXE

Article 3 : Métabolisme et fonction du L-glutamate dans les cellules épithéliales de l'intestin grêle et du gros intestin

Résumé

Cet article est un article de revue qui résume le métabolisme et les fonctions du L-glutamate dans l'intestin.

Article



Metabolism and functions of L-glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines^{1–3}

François Blachier, Claire Boutry, Cécile Bos, and Daniel Tomé

ABSTRACT

L-Glutamate is one of the most abundant amino acids in alimentary proteins, but its concentration in blood is among the lowest. This is largely because L-glutamate is extensively oxidized in small intestine epithelial cells during its transcellular journey from the lumen to the bloodstream and after its uptake from the bloodstream. This oxidative capacity coincides with a high energy demand of the epithelium, which is in rapid renewal and responsible for the nutrient absorption process. L-Glutamate is a precursor for glutathione and N-acetylglutamate in enterocytes. Glutathione is involved in the enterocyte redox state and in the detoxication process. N-acetylglutamate is an activator of carbamoylphosphate synthetase 1, which is implicated in L-citrulline production by enterocytes. Furthermore, L-glutamate is a precursor in enterocytes for several other amino acids, including L-alanine, L-aspartate, L-ornithine, and L-proline. Thus, L-glutamate can serve both locally inside enterocytes and through the production of other amino acids in an interorgan metabolic perspective. Intestinal epithelial cell capacity to oxidize L-glutamine and L-glutamate is already high in piglets at birth and during the suckling period. In colonocytes, L-glutamate also serves as a fuel but is provided from the bloodstream. Alimentary and endogenous proteins that escape digestion enter the large intestine and are broken down by colonic bacterial flora, which then release L-glutamate into the lumen. L-Glutamate can then serve in the colon lumen as a precursor for butyrate and acetate in bacteria. L-Glutamate, in addition to fiber and digestion-resistant starch, can thus serve as a luminally derived fuel precursor for colonocytes. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):814S–21S.

INTRODUCTION

In 1973 Abidi and Mercer (1) measured concentrations of individual amino acids and peptides in the jejunal contents of the small intestine in healthy human volunteers who received a test meal containing 50 g of purified bovine serum albumin. Three hours after the test meal was ingested, they found that the jejunal luminal content of L-glutamate was quite high (2.6 mmol/L). They also found that, among amino acids contained in luminal peptides, L-glutamate was the most abundant of the 18 amino acids analyzed. In sharp contrast, after the test meal L-glutamate concentration in venous blood plasma averaged 58 μ mol/L, which is among the lowest concentrations compared with those of the other amino acids (1). The fact that L-glutamate, in both free and peptide-bound forms, was very abundant in small intestinal luminal fluid was not surprising in itself when taking into account that this amino acid is the most abundant amino

acid (after lysine) in the protein used in the study (bovine serum albumin). This latter protein is not unusual in its abundance of L-glutamate; indeed, it can generally be considered that L-glutamate is one of the most abundant amino acids in dietary proteins (2). In their article, Adibi and Mercer pointed out that “in view of the complexity of transport and metabolic steps interposed in the process of amino acid movement from the gut into the periphery, the absence of a precise relationship (between amino acids in the alimentary protein and plasma concentration) is understandable” (p 1593). Nonetheless, despite this complexity of individual events that allow amino acids in alimentary and endogenous proteins to be used by the body (particularly at the intestinal level), a relatively clear picture has emerged from human and animal studies performed in recent decades.

This review focuses on the metabolism of L-glutamate in the epithelial cells of both the small and large intestine and on the physiologic functions related to L-glutamate metabolism. The metabolism and function of L-glutamate in intestinal epithelial cells cannot be described without considering L-glutamine, because these 2 amino acids possess a partially common metabolic fate. We have differentiated effects of L-glutamine on intestinal epithelial cells that can be mimicked by L-glutamate from effects that can be obtained exclusively with L-glutamine. From experiments performed with enterocytes isolated at different developmental stages, it appears that some L-glutamate and L-glutamine metabolic pathways are exclusively operative in a short period of time after birth. Last, although the metabolism and associated functions of L-glutamate and L-glutamine have been much less studied in colonic epithelial cells (colonocytes) than in small intestinal epithelial cells (enterocytes), there are indications of a complex metabolic interplay in colonocytes between substrates of luminal bacterial origin and substrates such as L-glutamate and L-glutamine of blood plasma origin.

¹ INRA, CRNH-IdF, UMR914 Nutrition Physiology and Ingestive Behavior, Paris, France (FB, C Boutry, and C Bos), and AgroParisTech, CRNH-IdF, UMR914, Paris, France (DT).

² Presented at the “100th Anniversary Symposium of Umami Discovery: The Roles of Glutamate in Taste, Gastrointestinal Function, Metabolism, and Physiology,” held in Tokyo, Japan, September 10–13, 2008.

³ Address correspondence to F Blachier, UMR 914 INRA–AgroParisTech Nutrition Physiology and Ingestive Behavior, AgroParisTech, 16 rue Claude Bernard, F-75005 Paris, France. E-mail: francois.blachier@agroparistech.fr. First published online July 1, 2009; doi: 10.3945/ajcn.2009.27462S.

L-GLUTAMATE AS AN OXIDATIVE SUBSTRATE IN SMALL INTESTINE EPITHELIAL CELLS

L-Glutamate and glutamate-containing peptides in the lumen of the small intestine originate not only from alimentary and endogenous proteins through the preliminary action of protease/peptidase activities but also from alimentary free L-glutamate, which is present in significant amounts in alimentary products (2) and from monosodium glutamate (MSG) used as a food additive for its flavor-enhancing property. The Na⁺-dependent high-affinity X⁻_{AG} system and/or the low-affinity B⁰ system have been shown to be involved in the transport of L-glutamate from the lumen into the intestinal epithelial cells (3). After partial degradation of luminal peptides through the activities of brush-border-associated peptidase activities, di- and tripeptides (including those containing L-glutamate) enter enterocytes through PepT1 proton-coupled peptide transporters (4) and release L-glutamate by the action of cytosolic peptidase activities (5). Then, free L-glutamate is extensively metabolized by enterocytes in various pathways, including those involved in enterocyte energy production. A number of studies have shown that a large proportion of L-glutamate is metabolized during its transcellular journey through enterocytes. In healthy volunteers, it has been shown that nearly all of the enterally delivered L-glutamate is removed by the splanchnic bed on the first pass (6, 7). In pigs, virtually all of the enteral L-glutamate is metabolized by the gut during absorption (8). In a 7-kg piglet, an increase in L-glutamate concentrations was observed in portal and arterial blood plasma when the basal milk formula, administered enterally at a rate of 510 μmol · kg⁻¹ · h⁻¹, was supplemented with MSG (1250 μmol · kg⁻¹ · h⁻¹) (9). Similarly, in larger (60 kg) pigs, transient portal and arterial hyperglutatememia was observed when the diet (ie, 800 g meal containing 142 g casein) was supplemented with 10 g MSG (10), indicating that, in these experimental situations, very large doses of L-glutamate may exceed the intestinal capacity to catabolize this amino acid. It

was determined that dietary L-glutamate is the most important contributor to mucosal oxidative metabolism in piglets (11). The pig represents a useful experimental model, because its intestinal metabolism and physiology are not vastly different from that of humans (12). It seems likely that part of L-glutamate that enters into enterocytes from either the luminal or the basolateral direction is sequestered in an intracellular pool, because L-glutamate concentration in enterocytes and intestinal mucosa has repeatedly been reported to be high (13, 14).

There is no doubt that oxidation represents the main metabolic fate of L-glutamate within enterocytes. The pioneering work of Windmueller and Spaeth (15) showed that carbon dioxide is the major metabolic end product of L-glutamate metabolism in the rat, regardless of whether it is supplied from the lumen or the arterial blood supply. Ashy and Ardawi (16) reported that, when used at the same concentration, L-glutamate and L-glutamine were each able to increase basal oxygen consumption to a similar extent in isolated human enterocytes. The metabolic steps involved in L-glutamate oxidation in enterocytes first involve transamination with oxaloacetate to produce α-ketoglutarate and L-aspartate (Figure 1). L-Glutamate can also be transaminated in the presence of pyruvate to produce L-alanine and α-ketoglutarate. Transamination appears to be the principal route by which L-glutamate is converted to α-ketoglutarate in enterocytes, because these cells have little capacity for the conversion of L-glutamate into α-ketoglutarate (and ammonia) through glutamate dehydrogenase (17). α-Ketoglutarate produced by transamination can then enter the mitochondria, and its metabolism via the tricarboxylic acid (TCA) cycle produces reduced coenzymes (NADH, FADH₂) used by the mitochondria for ATP synthesis. L-Aspartate produced by L-glutamate transamination can enter mitochondria and can also be oxidized in the TCA cycle (18), thus representing another oxidative fuel for enterocytes. L-Glutamate and L-glutamine are similarly oxidized by enterocytes (10). However, for L-glutamine, the amino acid must

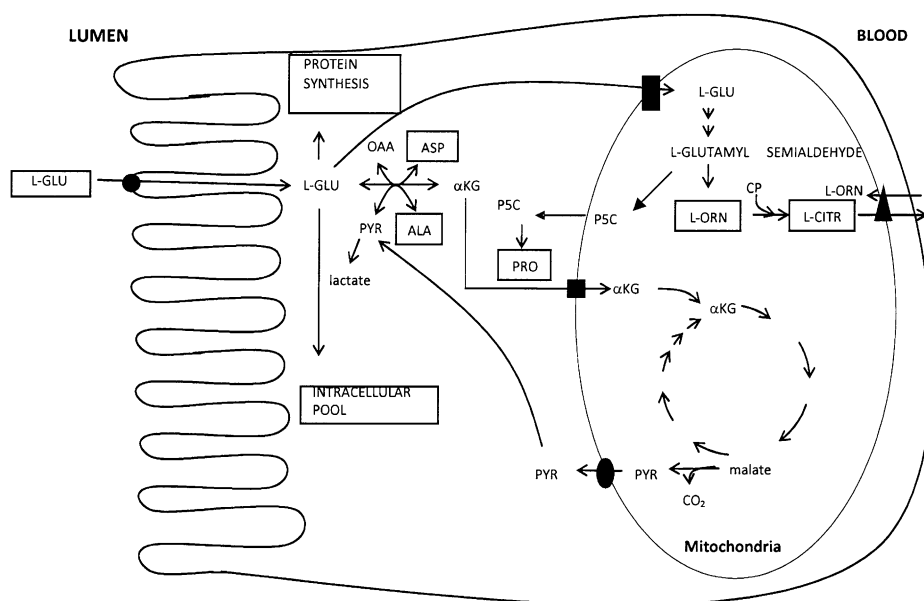


FIGURE 1. Schematic view of the metabolism of L-glutamate (L-GLU) in small intestine absorptive epithelial cells. This schema is mainly intended to represent amino acids produced within enterocytes from L-glutamate as well as the conversion of L-glutamate to α-ketoglutarate (αKG). OAA, oxaloacetate; ASP, L-aspartate; PYR, pyruvate; ALA, L-alanine; L-ORN, L-ornithine; L-CITR, L-citrulline; CP, carbamoylphosphate; P5C, pyrroline-5-carboxylate; PRO, L-proline.

first enter the mitochondria and be degraded to ammonia and L-glutamate by the phosphate-dependent glutaminase, which is abundant in enterocyte mitochondria in both villus and crypt cells (19). L-Glutamate that arises within the mitochondria may be exported into the cytosol, where it is metabolized into α -ketoglutarate before reentering the mitochondria and the TCA cycle (20). In this way, L-glutamate and L-glutamine may be equally effective as fuels for energy production within enterocytes.

When both L-glutamate and L-glutamine are simultaneously presented to enterocytes, L-glutamate is able to inhibit L-glutamine utilization and oxidation (10). This sparing effect of L-glutamate over L-glutamine is presumably dependent on the relative concentrations of both amino acids inside enterocytes.

ATP production and utilization are particularly active in enterocytes. Although the gastrointestinal tract represents only $\approx 5\%$ of body weight, it is responsible for $\approx 20\%$ of whole-body oxygen consumption (21, 22). The intestinal epithelial cells have high energy demands (23), due to the rapid renewal of the epithelium every few days (24, 25) and sodium extrusion at the basolateral membranes through the activity of Na/K ATPase (26).

L-Glutamine, but not L-glutamate, can be used for purine and pyrimidine synthesis (27) and can serve as a precursor in *N*-acetylglucosamine and *N*-acetylgalactosamine synthesis, which is involved in intestinal mucin synthesis (28). Due to a very low glutamine synthetase activity in small intestine mucosa (29), the capacity for *de novo* synthesis of L-glutamine from L-glutamate is very limited. This modest glutamine synthetase expression is located primarily in the crypt region of the small intestine, where cell mitosis is active (30).

L-GLUTAMATE AS A PRECURSOR FOR OTHER AMINO ACIDS AND PROTEIN SYNTHESIS IN THE INTESTINAL MUCOSA

L-Glutamate, in addition to being used with other amino acids for protein synthesis within the intestinal mucosa (31), can also be used by enterocytes to produce other amino acids, including L-aspartate (10), L-alanine (32), L-proline (34), L-ornithine (33), and L-citrulline (34). The latter 2 amino acids are not present in proteins but play important roles in interorgan metabolism. As indicated in Figure 1, L-aspartate and L-alanine are produced by transamination of L-glutamate in the presence of oxaloacetate and pyruvate, respectively (35). L-Glutamate can also serve as a precursor for the stepwise production of L-ornithine in mitochondria. Then, L-ornithine can serve as a substrate for L-citrulline production. Interestingly, it has been proposed that post-absorptive plasma L-citrulline concentration is a marker of absorptive enterocyte mass and intestinal failure in humans (36). L-Citrulline that is released into the portal vein is believed to pass through the liver without significant uptake and used by the kidneys in the *de novo* synthesis of L-arginine in humans (37) and other mammals (38). In studies in rats, the pharmacologic inhibition of intestinal L-citrulline synthesis produces severe growth retardation (39). L-Citrulline can be synthesized in enterocytes from both L-glutamine and L-glutamate (15). However, because glutaminase is highly expressed in small intestinal epithelial cells, whereas glutamate dehydrogenase is not, L-glutamine utilization in enterocytes (40), but not that of L-glutamate (41), produces substantial quantities of ammonia.

Both L-glutamate and L-glutamine are effective precursors for the production of other amino acids (10, 15). There is evidence that L-glutamine and L-arginine work synergistically in L-citrulline production by enterocytes (42). Indeed, in enterocytes, L-arginine is a better precursor for L-ornithine production than is L-glutamine (13), and L-glutamine, through the catalytic activity of mitochondrial glutaminase, produces ammonia, which serves as a precursor for carbamylphosphate production (34). This latter metabolite is a cosubstrate for L-citrulline synthesis.

L-GLUTAMATE AS A PRECURSOR OF GLUTATHIONE AND ACETYLGLUTAMATE IN INTESTINAL MUCOSA

Together with L-cysteine and glycine, L-glutamate is the precursor for the synthesis of glutathione in the enterocyte cytosol (Figure 2). This pathway is probably more limited by L-cysteine than by L-glutamate availability. Studies in pigs suggest extensive utilization of dietary cysteine by the intestine (43). It is also metabolized by isolated enterocytes (44). It has been reported that in fed piglets, mucosal glutathione is derived largely from the direct metabolism of enteral L-glutamate (45). The ratio of reduced to oxidized glutathione in enterocytes is an important measure for both the determination of the intracellular redox status (46) and for the cell's capacity to control intracellular concentrations of both oxygen-reactive and nitrogen-reactive species (47). Indeed, it has been shown that the pharmacologic inhibition of mucosal glutathione synthesis is associated with alterations of intestinal functions that can be prevented by giving glutathione monoester orally (48). In addition to mucosal glutathione synthesis, human enterocytes are capable of extracellular glutathione uptake (49).

L-glutamate in enterocytes is also involved in a quantitatively minor metabolic pathway, ie, *N*-acetylglutamate synthesis. *N*-acetylglutamate is produced from acetyl-coenzyme A and L-glutamate by *N*-acetylglutamate synthase. This latter enzyme was detected in both intestinal mucosa (50) and in enterocytes (51). It can be activated by L-arginine and is found within enterocyte mitochondria, together with carbamoyl synthetase 1 and ornithine carbamoyltransferase (42). Because *N*-acetylglutamate is an allosteric activator of carbamoyl synthetase 1, this L-glutamate-derived metabolite is believed to play a role in the capacity of enterocytes to produce L-citrulline.

ENTEROCYTE L-GLUTAMATE, L-GLUTAMINE, AND L-ARGININE METABOLISM IN RELATION TO DEVELOPMENTAL STAGE

As described above, the metabolism of L-glutamate, L-glutamine, and L-arginine is deeply interwoven. Some metabolic pathways used by these amino acids have been shown to be constitutively maintained in enterocytes during development, whereas others are deeply modified by developmental stage. In humans, for example, it has been shown that, in enterally fed, preterm infants, L-glutamate is an important energy source for the splanchnic area (52). Enterocytes that are isolated from piglet small intestine at birth display a high capacity for L-glutamine oxidation (53), indicating that this amino acid can be used as a fuel at this stage of development. Furthermore, enterocytes isolated from newborn pigs are able to convert L-glutamine into L-citrulline and L-arginine (54). In contrast, L-arginine is very

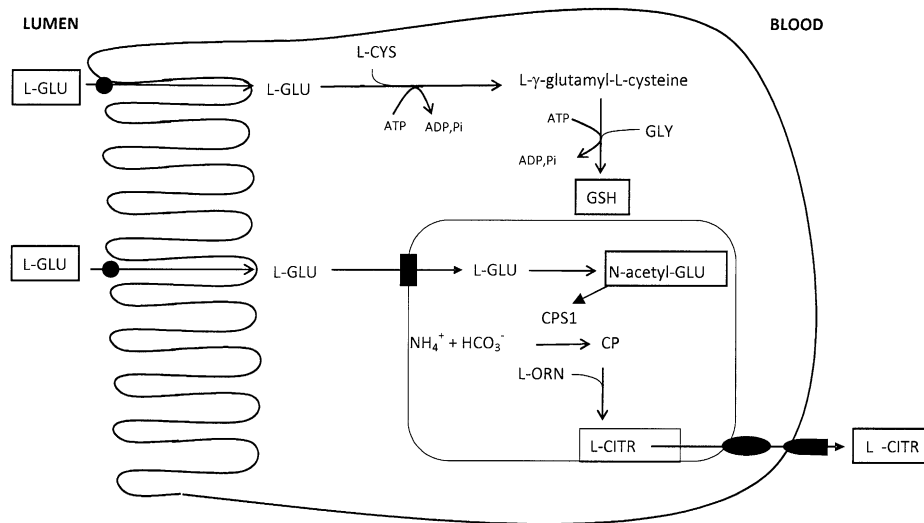


FIGURE 2. Schematic view of the conversion of L-glutamate (L-GLU) into glutathione and N-acetylglutamate (N-acetyl-GLU) in small intestine absorptive epithelial cells. This schema also represents the activation of carbamoylphosphate synthetase 1 (CPS1) by N-acetylglutamate for L-citrulline (L-CITR) production. L-CYS, L-cysteine; GLY, glycine; L-ORN, L-ornithine; CP, carbamoylphosphate.

little used in the arginase and nitric oxide synthase pathways, indicating that, at this developmental stage, metabolism is orientated toward L-arginine production (55). At birth, there is a relatively high ornithine decarboxylase activity (ODC), which falls after 2 d. However, the flux of L-ornithine through ODC is relatively modest (56). The polyamines, which can also be imported from the extracellular medium into enterocytes, are known to be implicated in the process of cell division and differentiation, which is very intense after birth in the intestinal mucosa of humans (57) and other mammals (58). The capacity of epithelial cells to synthesize L-arginine from L-glutamine and L-glutamate may reflect the high content in milk proteins of glutamate and glutamine and the relatively low content of arginine (59). In this context, in premature or low-birth-weight infants, a moderate and transient hyperammonemia that is reversible with L-arginine is often observed (60). This hyperammonemia is due to a low plasma concentration of L-arginine and L-ornithine. It has been proposed that the slight hyperammonemia in low-birth-weight infants may be due to an incomplete repletion of L-arginine in the liver urea cycle, but it is not known if the capacity of intestine for L-arginine synthesis is altered in such infants.

In suckling piglets, it was observed that, soon after birth, the capacity of enterocytes to convert L-glutamine to L-citrulline is severely decreased, compared with the situation at birth (54). In contrast, L-glutamine still represented a major oxidative substrate for enterocytes in these animals. Indeed, in suckling piglet enterocytes, L-glutamine was ≈ 8 times more rapidly oxidized than in enterocytes isolated from weaned pigs (53). In addition, L-arginine utilization in L-ornithine- and nitric oxide-producing pathways was markedly increased, indicating that a pseudo-urea cycle is operative in suckling piglet enterocytes (54, 55). Last, ornithine decarboxylase activity in enterocytes was severely diminished, which suggests a dependence of enterocytes on luminal polyamines in these animals. Milk is relatively rich in polyamines in both humans (61) and other mammals (62). The metabolic situation observed in suckling piglet enterocytes is transient, because other modifications

are observed between the suckling and postweaning periods. Indeed, in enterocytes isolated at that latter stage of development, the capacity of enterocytes to convert L-citrulline into L-arginine was lost, and the capacity of the cells to convert L-arginine into nitric oxide and L-ornithine was greatly increased (54, 55). Because nitric oxide production in the small intestinal mucosa is required for the maintenance of epithelial integrity and the modulation of epithelial permeability (63, 64), the increased expression of nitric oxide synthase during development may be related to the acquisition of new intestinal functions.

L-GLUTAMATE AND L-GLUTAMINE METABOLISM IN COLON EPITHELIAL CELLS

It is well known that there are important differences between the luminal environment in the small and large intestines. The colonic epithelium (like the small intestinal epithelium) is a structure in rapid renewal (65). This process of constant renewal, together with the activity of colonocytes in transporting water and electrolytes, makes the epithelial colonic cells high energy consumers (66). It is therefore important to identify the oxidative substrates of both blood and luminal origin. The luminal contents that face the epithelium are characterized by high quantities of bacteria together with a high concentration of bacterial metabolites (67), some of which are known fuels, and others which are suspected of being “energy metabolism troublemakers” when present in excess (68). Another important characteristic of the colonic epithelium is that, except for a very short period after birth, there is little or no transfer of amino acids from the lumen to portal blood (69). Under such circumstances, amino acids (including L-glutamate and L-glutamine) must be taken into colonocytes from arterial blood. Colonic differentiated epithelial cells can use L-glutamine from the blood plasma as an oxidative substrate (70). L-Glutamine is first converted into L-glutamate and ammonia by the mitochondrial enzyme glutaminase, and then into α -ketoglutarate, mainly by transamination, followed by entry into the TCA cycle (20) (Figure 3).



Colonocytes can also use luminal organic acids generated from microbial activity, including short-chain fatty acids, as oxidative substrates (67). Dietary substrates for short-chain fatty acid production are mainly dietary fiber, resistant starch, and proteins (71). Although alimentary protein digestion followed by amino acid and oligopeptide absorption by the small intestine is efficient (72), substantial amounts of nitrogenous compounds of both exogenous and endogenous origin enter the large intestine through the ileocecal junction. In humans, this nitrogenous material, consisting mainly of proteins and peptides (73), is quantitatively related to the amounts of ingested proteins (74) and represents between 6 and 18 g/d (75). The first event in colonic protein degradation is hydrolysis of proteins and polypeptides by proteases and peptidases, which results in peptide and amino acid release, followed by the production of numerous bacterial metabolites.

There is no doubt that several of these compounds can exert effects (beneficial and deleterious) on colonic epithelial cell metabolism and function. The study of these effects has drawn little attention. These effects are likely to depend on factors such as luminal concentrations (which can be modified by diet), colonic transit time, detoxifying capacity of epithelial cells in response to increased quantities of deleterious compounds, and cellular metabolic utilization of the luminal metabolites and their effects on colonocyte intermediary and oxidative metabolism (68).

In the large intestinal lumen, L-glutamate released from proteins and peptides is the precursor for acetate and butyrate production (67), but the relative contributions of L-glutamate and alimentary polysaccharides to acetate and butyrate production have not been determined. Glutamine synthetase activity, in contrast to what is found in small intestinal mucosa, is relatively high in the large intestinal mucosa (29). Recently, we found that ATP-dependent glutamine synthetase activity in rat isolated colonocytes is 10 times more than the activity measured in isolated enterocytes (F Allek and F Blachier, unpublished data, 2009). Because the L-glutamine-degrading enzyme gluta-

minase is also highly expressed in colonocytes (76), this raises the open question of the physiologic meaning of the expression within the same cells of L-glutamine-synthesizing and -degrading enzymes. Because ammonia at concentrations that can be found in the colonic lumen inhibits short-chain fatty acid oxidation in colonic epithelial cells (77, 78), it can be speculated that cytosolic glutamine synthetase activity, which converts L-glutamate and ammonia into L-glutamine, may represent a way to reduce the intracellular concentration of ammonia during its transfer from the lumen to the bloodstream. Carbamoylphosphate synthetase 1 and ornithine transcarbamylase activities can be measured in rat colonocyte mitochondria (79). Because ammonia can increase the conversion of L-arginine into L-citrulline in colonocytes (80), it is likely that this metabolic pathway may contribute to control intramitochondrial ammonia concentrations, and thus its effect on colonocyte short-chain fatty acid oxidation. Glutamine synthetase activity in colonocytes may also correspond to a fine tuning of intracellular L-glutamine concentrations in colonocytes, because this latter amino acid has been found in *in vitro* experiments to be implicated in protein synthesis (81) and in the control of cytokine-induced apoptosis (82).

From available data, it thus appears that energy production in colonocytes is dependent on a complex metabolic interplay between substrates of both colonic bacterial origin and from blood plasma, and that L-glutamate is likely to intervene in such a process. Utilization of L-glutamate in colonocytes is not restricted to energy metabolism. Both *de novo* glutathione synthesis and transport occur in colonocytes (83). Furthermore, L-glutamine metabolism in isolated colonocytes through the conversion into L-glutamate gives rise to a net production of L-aspartate, L-alanine, and lactate (84), which suggests a role of colonic epithelial cells for interorgan metabolism.

The capacity of colonocytes to use L-glutamate is high in colonocytes but remains smaller than in enterocytes (85). Accordingly, the phosphate-dependent glutaminase activity is weaker in colonocytes than in enterocytes (86). It is worth noting that

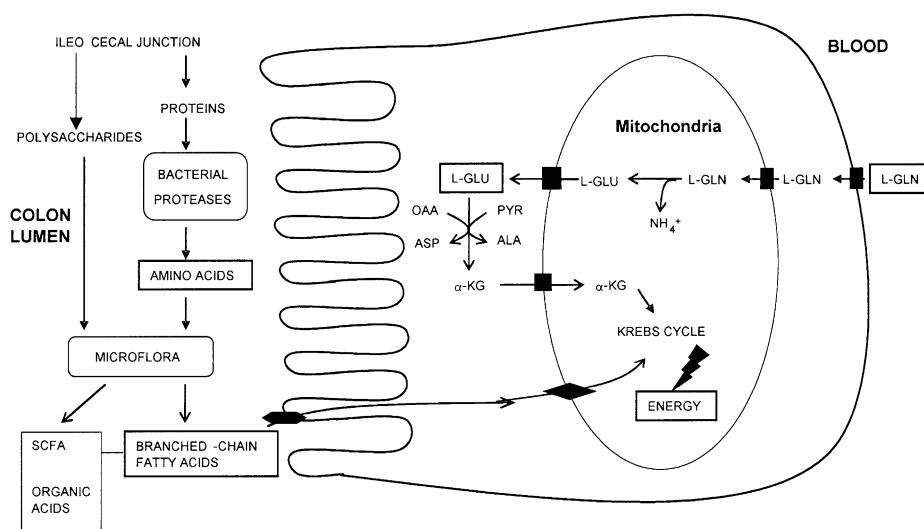


FIGURE 3. Schematic view of the production of energy in large intestine absorptive epithelial cells from plasma L-glutamate (L-GLU) and from luminal bacterial metabolites. These metabolites are produced from polysaccharides and from amino acids. Among amino acids, glutamate can serve as a precursor for butyrate and acetate production, which are oxidative substrates for colonocytes. SCFA, short-chain fatty acids; L-GLN, L-glutamine; OAA, oxaloacetate; ASP, L-aspartate; PYR, pyruvate; ALA, L-alanine; α -KG, α -ketoglutarate.

the metabolic products that derive from L-glutamine metabolism in colonocytes are also produced in enterocytes. However, unlike what is observed in enterocytes (13), colonocytes isolated from rats and pigs produce more L-aspartate than L-alanine from L-glutamine (66, 84). This coincides with a higher activity of aspartate aminotransferase than alanine aminotransferase in colonocytes (87). (Other articles in this supplement to the Journal include references 88–116.)

All authors participated equally in the writing of the manuscript. The authors' travel expenses associated with participation in the symposium and an honorarium were paid by the conference sponsor, the International Glutamate Technical Committee, a nongovernmental organization funded by industrial producers and users of glutamate in food. The authors declared no conflicts of interest in the material presented in this paper.

REFERENCES

1. Adibi SA, Mercer DW. Protein digestion in human intestine as reflected in luminal, mucosal, and plasma amino acid concentrations after meals. *J Clin Invest* 1973;52:1586–94.
2. Beyreuther K, Biesalski HK, Fernstrom JD, et al. Consensus meeting: monosodium glutamate- an update. *Eur J Clin Nutr* 2007;61:304–13.
3. Fan MG, Matthews JC, Etienne NM, Stoll B, Lackeyram D, Burrin DG. Expression of apical membrane L-glutamate transporters in neonatal porcine epithelial cells along the small intestinal crypt-villus axis. *Am J Physiol* 2004;287:G385–98.
4. Saito H, Terada T, Shimakura J, Katsura T, Inui K. Regulatory mechanism governing the diurnal rhythm of intestinal H⁺/peptide co-transporter 1 (PEPT1). *Am J Physiol* 2008;295:G395–402.
5. Schiller CM, Huang TI, Heizer WD. Isolation and characterization of four peptide hydrolases from the cytosol of rat intestinal mucosa. *Gastroenterology* 1977;72:93–100.
6. Matthews DE, Marano MA, Campbell RG. Splanchnic bed utilization of glutamine and glutamic acid in humans. *Am J Physiol* 1993;264:E848–54.
7. Battezzati A, Brillion DJ, Matthews DE. Oxidation of glutamic acid by the splanchnic bed in humans. *Am J Physiol* 1995;269:E269–76.
8. Reeds PJ, Burrin DG, Jahoor F, Wykes L, Henry J, Frazer EM. Enteral glutamate is almost completely metabolized in first pass by the gastrointestinal tract of infant pigs. *Am J Physiol* 1996;270:E413–8.
9. Janeczko MJ, Stoll B, Chang X, Guan X, Burrin DG. Extensive gut metabolism limits the intestinal absorption of excessive supplemental dietary glutamate loads in infant pigs. *J Nutr* 2007;137:2384–90.
10. Blachier F, Guihot-Joubrel G, Vaugelade P, et al. Portal hyperglutatememia after dietary supplementation with monosodium glutamate in pigs. *Digestion* 1999;60:349–57.
11. Stoll B, Burrin DG, Henry J, Yu H, Jahoor F, Reeds P. Substrate oxidation by the portal drained viscera of fed piglets. *Am J Physiol* 1999;277:E168–75.
12. Reeds PJ, Burrin DG, Stoll B, Jahoor F. Intestinal glutamate metabolism. *J Nutr* 2000;130:978S–82S.
13. Blachier F, Darcy-Vrillon B, Sener A, Duée PH, Malaisse WJ. Arginine metabolism in rat enterocytes. *Biochim Biophys Acta* 1991;1092:304–10.
14. Van Der Hulst RRWJ, Von Meyenfeldt MF, Deutz NEP, Stockbrügger, Soeters PB. The effect of glutamine administration on intestinal glutamine content. *J Surg Res* 1996;61:30–4.
15. Windmueller HG, Spaeth AE. Intestinal metabolism of glutamine and glutamate from the lumen as compared to glutamine from blood. *Arch Biochem Biophys* 1975;171:662–72.
16. Ashy AA, Ardawi MS. Glucose, glutamine, and ketone-body metabolism in human enterocytes. *Metabolism* 1988;37:602–9.
17. Madej M, Lundh T, Lindberg JE. Activity of enzymes involved in energy production in the small intestine during suckling-weaning transition in pigs. *Biol Neonate* 2002;82:53–60.
18. Windmueller HG, Spaeth AE. Metabolism of absorbed aspartate, asparagine, and arginine by rat small intestine in vivo. *Arch Biochem Biophys* 1976;175:670–6.
19. Pinkus LM, Windmueller HG. Phosphate-dependent glutaminase of small intestine: localization and role in intestinal glutamine metabolism. *Arch Biochem Biophys* 1977;182:506–17.
20. Duée PH, Darcy-Vrillon B, Blachier F, Morel MT. Fuel selection in intestinal cells. *Proc Nutr Soc* 1995;54:83–94.
21. Vaugelade P, Posho L, Darcy-Vrillon B, Bernard F, Morel MT, Duée PH. Intestinal oxygen uptake and glucose metabolism during nutrient absorption in the pig. *Proc Soc Exp Biol Med* 1994;207:309–16.
22. Yen JT, Nienaber JA, Hill DA, Pond WG. Oxygen consumption by portal vein drained organs and whole animal in conscious growing swine. *Proc Soc Exp Biol Med* 1989;190:393–8.
23. Watford M, Lund P, Krebs HA. Isolation and metabolic characteristics of rat and chicken enterocytes. *Biochem J* 1979;178:589–96.
24. Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches. *Science* 2006;311:1880–5.
25. Grossmann J, Mohr S, Lapetina EG, Fioocchi C, Levine AD. Sequential and rapid activation of select caspases during apoptosis of normal intestinal epithelial cells. *Am J Physiol* 1998;274:G1117–24.
26. Buttgeriet F, Brand MD. A hierarchy of ATP-consuming processes in mammalian cells. *Biochem J* 1995;312:163–7.
27. Newsholme EA, Carrié AL. Quantitative aspects of glucose and glutamine metabolism by intestinal cells. *Gut* 1994;35:S13–7.
28. Reeds PJ, Burrin DG. Glutamine and the bowel. *J Nutr* 2001;131:2505S–8S.
29. James LA, Lunn PG, Elia M. Glutamine metabolism in the gastrointestinal tract of the rat assessed by the relative activities of glutaminase (EC 3.5.1.2.) and glutamine synthetase (EC 6.3.1.2). *Br J Nutr* 1998;79:365–72.
30. Roig JC, Shenoy VB, Chakrabarti R, Lau JY, Neu J. Localization of rat small intestine glutamine synthetase using immunofluorescence and in situ hybridization. *J Parent Ent Nutr* 1995;19:179–81.
31. Bos C, Stoll B, Fouillet H, et al. Postprandial intestinal and whole body nitrogen kinetics and distribution in piglets fed a single meal. *Am J Physiol* 2005;288:E436–46.
32. Wu G, Borbolla AG, Knabe DA. The uptake of glutamine and release of arginine, citrulline and proline by the small intestine of developing pigs. *J Nutr* 1994;124:2437–44.
33. Henslee JG, Jones ME. Ornithine synthesis from glutamate in rat small intestinal mucosa. *Arch Biochem Biophys* 1982;219:186–97.
34. Wu G, Knabe DA, Flynn NE. Synthesis of citrulline from glutamine in pig enterocytes. *Biochem J* 1994;299:115–21.
35. Kight CE, Fleming SE. Transamination processes promote incomplete glutamine oxidation in small intestine epithelial cells. *J Nutr Biochem* 1995;6:27–37.
36. Crenn P, Coudray-Lucas C, Thuillier F, Cynober L, Messing B. Post-absorptive plasma citrulline concentration is a marker of absorptive enterocyte mass and intestinal failure in humans. *Gastroenterology* 2000;119:1496–505.
37. Van de Poll MC, Siroen MP, van Leeuwen PA, et al. Interorgan amino acid exchange in humans: consequences for arginine and citrulline metabolism. *Am J Clin Nutr* 2007;207:167–72.
38. Dhanakoti SN, Brosnan JT, Herzberg GR, Brosnan ME. Renal arginine synthesis: studies in vitro and in vivo. *Am J Physiol* 1990;259:E437–42.
39. Hoogenraad N, Totino N, Elmer H, Wraight C, Alewood P, Johns RB. Inhibition of intestinal citrulline synthesis causes severe growth retardation in rats. *Am J Physiol* 1985;249:G792–9.
40. Weber FL, Veach GL. The importance of the small intestine in gut ammonium production in the fasting dog. *Gastroenterology* 1979;77:235–40.
41. Johnson AW, Berrington JM, Walker I, Manning A, Losowsky MS. Measurement of the transfer of the nitrogen moiety of intestinal lumen glutamic acid in man after oral ingestion of L-(15N) glutamic acid. *Clin Sci* 1988;75:499–502.
42. Guihot G, Blachier F, Colomb V, et al. Effect of an elemental vs a complex diet on L-citrulline production from L-arginine in rat isolated enterocytes. *J Parent Ent Nutr* 1997;21:316–23.
43. Shoveller AK, Stoll B, Ball RO, Burrin DG. Nutritional and functional importance of intestinal sulfur amino acid metabolism. *J Nutr* 2005;135:1609–12.
44. Coloso RM, Stipanuk MH. Metabolism of cyst(e)ine in rat enterocytes. *J Nutr* 1989;119:1914–24.
45. Reeds PJ, Burrin DG, Stoll B, et al. Enteral glutamate is the preferential source for mucosal glutathione synthesis in fed piglets. *Am J Physiol* 1997;273:E408–15.
46. Chakravarthi S, Jessop CE, Bulleid NJ. The role of glutathione in disulphide bond formation and endoplasmic-reticulum-generated oxidative stress. *EMBO Rep* 2006;7:271–5.



47. Kemp M, Go YM, Jones DP. Nonequilibrium thermodynamics of thiol/disulfide redox systems: a perspective on redox system biology. *Free Radic Biol Med* 2008;44:921–37.
48. Martensson J, Jain A, Meister A. Glutathione is required for intestinal function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:1715–9.
49. Lantomasi T, Favilli F, Marraccini P, Magaldi T, Bruni P, Vincenzini MT. Glutathione transport system in human small intestine epithelial cells. *Biochim Biophys Acta* 1997;1330:274–83.
50. Wakabayashi Y, Iwashima A, Yamada E, Yamada RH. Enzymological evidence for the indispensability of small intestine in the synthesis of arginine from glutamate. *Arch Biochem Biophys* 1991;291:9–14.
51. Uchiyama C, Mori M, Tatibana M. Subcellular localization and properties of N-acetylglutamate synthase in rat intestinal mucosa. *J Biochem* 1981;89:1777–86.
52. Riedijk MA, de Gast-Bakker DA, Wattimena JL, van Goudoever JB. Splanchnic oxidation is the major metabolic fate of dietary glutamate in enterally fed preterm infants. *Pediatr Res* 2007;62:468–73.
53. Darcy-Vrillon B, Posho L, Morel MT, et al. Glucose, galactose, and glutamine metabolism in pig isolated enterocytes during development. *Pediatr Res* 1994;36:175–81.
54. Blachier F, M'Rabet-Touil H, Posho L, Darcy-Vrillon B, Duée PH. Intestinal arginine metabolism during development. Evidence for de novo synthesis of L-arginine in newborn pig enterocytes. *Eur J Biochem* 1993;216:109–17.
55. M'Rabet-Touil H, Blachier F, Morel MT, Darcy-Vrillon B, Duée PH. Characterization and ontogenesis of nitric oxide synthase activity in pig enterocytes. *FEBS Lett* 1993;331:243–7.
56. Blachier F, M'Rabet-Touil H, Posho L, et al. Polyamine metabolism in enterocytes isolated from newborn pigs. *Biochim Biophys Acta* 1992;1175:21–6.
57. Shulman RJ, Wong WW, O'Brian-Smith E. Influence of changes in lactase activity and small-intestinal mucosal growth on lactose digestion and absorption in preterm infants. *Am J Clin Nutr* 2005;81:472–9.
58. Klein RM, McKenzie JC. The role of cell renewal in the ontogeny of the intestine. I Cell proliferation pattern in adult, fetal and neonatal intestine. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983;2:10–43.
59. Davis TA, Nguyen HV, Garcia-Bravo R, et al. Amino acid composition of human milk is not unique. *J Nutr* 1994;124:1126–32.
60. Batshaw ML, Wachtel RC, Thomas GH, Starrett A, Brusilow SW. Arginine-responsive asymptomatic hyperammonemia in the premature infant. *J Pediatr* 1984;105:86–91.
61. Romain N, Dandriofosse G, Jeusette F, Forget P. Polyamine concentration in rat milk and food, human milk, and infant formulas. *Pediatr Res* 1992;32:58–63.
62. Motyl T, Ploszaj T, Wojtasik A, Kukulska W, Podgurniak M. Polyamines in cow's and sow's milk. *Comp Biochem Physiol* 1995;111B:427–33.
63. Miller MJ, Zhang XJ, Sadowska-Krowicka H, et al. Nitric oxide release in response to gut injury. *Scand J Gastroenterol* 1993;28:149–54.
64. Kubes P. Nitric oxide modulates epithelial permeability in the feline small intestine. *Am J Physiol* 1992;262:G1138–42.
65. Potten CS. Epithelial cell growth and differentiation II. Intestinal apoptosis. *Am J Physiol* 1997;273:G253–7.
66. Ardawi MS, Newsholme EA. Fuel utilization in colonocytes of the rat. *Biochem J* 1985;231:713–9.
67. Macfarlane GT, Cummings JH. The colonic flora, fermentation and large bowel digestive function. In: Philipps SF, Pemberton JH, Shorter RG, eds. *The large intestine: physiology, pathophysiology and disease*. New York, NY: Raven Press, 1991:51–92.
68. Blachier F, Mariotti F, Huneau JF, Tomé D. Effects of amino acid-derived luminal metabolites on the colonic epithelium and physiopathological consequences. *Amino Acids* 2007;33:547–62.
69. Smith MW, James PS. Amino acid transport by the helicoidal colon of the new-born pig. *Biochim Biophys Acta* 1976;419:391–4.
70. Firmansyah A, Penn D, Leberthal E. Isolated colonocyte metabolism of glucose, glutamine, n-butyrate, and beta-hydroxybutyrate in malnutrition. *Gastroenterology* 1989;97:622–9.
71. Mortensen PB, Clausen MR. Short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease. *Scand J Gastroenterol* 1996;216:132–48.
72. Bos C, Juillet B, Fouillet H, et al. Postprandial metabolic utilization of wheat protein in humans. *Am J Clin Nutr* 2005;81:87–94.
73. Chacko A, Cummings JH. Nitrogen losses from the human small bowel: obligatory losses and the effects of physical form of food. *Gut* 1988;29:809–15.
74. Silvester KR, Cummings JH. Does digestibility of meat protein help explain large bowel cancer risk? *Nutr Cancer* 1995;24:279–88.
75. Gibson JA, Sladem GE, Dawson AM. Protein absorption and ammonia production: the effects of dietary protein and removal of the colon. *Br J Nutr* 1976;35:61–5.
76. Cherbuy C, Darcy-Vrillon B, Morel MT, Pégrier JP, Duée PH. Effect of germfree state on the capacities of isolated rat colonocytes to metabolize n-butyrate, glucose, and glutamine. *Gastroenterology* 1995;109:1890–9.
77. Darcy-Vrillon B, Cherbuy C, Morel MT, Durand M, Duée PH. Short chain fatty acid and glucose metabolism in isolated pig colonocytes: modulation by NH₄⁺. *Mol Cell Biochem* 1996;156:145–51.
78. Cremin JD, Fitch MD, Fleming SE. Glucose alleviates ammonia-induced inhibition of short-chain fatty acid metabolism in rat colonic epithelial cells. *Am J Physiol* 2003;285:G105–14.
79. Mouillé B, Morel E, Robert V, Guihot-Joubrel G, Blachier F. Metabolic capacity for L-citrulline synthesis from ammonia in rat isolated colonocytes. *Biochim Biophys Acta* 1999;1427:401–7.
80. Mouillé B, Robert V, Blachier F. Adaptive increase of ornithine production and decrease of ammonia metabolism in rat colonocytes after hyperproteic diet ingestion. *Am J Physiol* 2004;287:G344–51.
81. Le Bacquer O, Nazih H, Blottière H, Meynial-Denis D, Laboisie C, Darmaun D. Effects of glutamine deprivation on protein synthesis in a model of human enterocytes in culture. *Am J Physiol* 2001;281:G1340–7.
82. Evans ME, Jones DP, Ziegler TR. Glutamine inhibits cytokine-induced apoptosis in human colonic epithelial cells via the pyrimidine pathway. *Am J Physiol* 2005;289:G388–96.
83. Roediger WEW, Babidge W. Human colonocyte detoxification. *Gut* 1997;41:731–4.
84. Darcy-Vrillon B, Morel MT, Cherbuy C, et al. Metabolic characteristics of pig colonocytes after adaptation to a high fiber diet. *J Nutr* 1993;123:234–43.
85. Roediger WEW. Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon. *Gastroenterology* 1982;83:424–9.
86. Ardawi MSM, Jalalah SM. Effects of hypothyroidism on glucose and glutamine metabolism by the gut of the rat. *Clin Sci* 1991;81:347–55.
87. Volman-Mitchell H, Parsons DS. Distribution and activities of dicarboxylic amino acid and transaminases in gastrointestinal mucosa of rat, mouse, hamster, guinea pig, chicken and pigeon. *Biochim Biophys Acta* 1974;334:316–27.
88. Fernstrom JD. Introduction to the symposium. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):705S–6S.
89. Krebs JR. The gourmet ape: evolution and human food preferences. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):707S–11S.
90. Curtis RI. Umami and the foods of classical antiquity. *Am J Clin Nutr* 2009; 90(suppl):712S–8S.
91. Kurihara K. Glutamate: from discovery as a food flavor to role as a basic taste (umami). *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):719S–22S.
92. Beauchamp GK. Sensory and receptor responses to umami: an overview of pioneering work. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):723S–7S.
93. Sano C. History of glutamate production. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):728S–32S.
94. Li X. T1R receptors mediate mammalian sweet and umami taste. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):733S–7S.
95. Chaudhari N, Pereira E, Roper SD. Taste receptors for umami: the case for multiple receptors. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):738S–42S.
96. San Gabriel A, Maekawa T, Uneyama H, Torii K. Metabotropic glutamate receptor type 1 in taste tissue. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):743S–6S.
97. Yasumatsu K, Horio N, Murata Y, et al. Multiple receptors underlie glutamate taste responses in mice. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):747S–52S.
98. Kinnamon SC. Umami taste transduction mechanisms. *Am J Clin Nutr* 2009; 90(suppl):753S–5S.
99. Bachmanov AA, Inoue M, Ji H, Murata Y, Tordoff MG, Beauchamp GK. Glutamate taste and appetite in laboratory mice: physiologic and genetic analyses. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):756S–63S.
100. Shigemura N, Shirosaki S, Ohkuri T, et al. Variation in umami perception and in candidate genes for the umami receptor in mice and humans. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):764S–9S.
101. Chen Q-Y, Alarcon S, Tharp A, et al. Perceptual variation in umami taste and polymorphisms in *TAS1R* taste receptor genes. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):770S–9S.

102. Mennella JA, Forestell CA, Morgan LK, Beauchamp GK. Early milk feeding influences taste acceptance and liking during infancy. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):780S–8S.
103. Raliou M, Wiencis A, Pillias A-M, et al. Nonsynonymous single nucleotide polymorphisms in human *tas1r1*, *tas1r3*, and mGluR1 and individual taste sensitivity to glutamate. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):789S–99S.
104. Donaldson LF, Bennett L, Baic S, Melichar JK. Taste and weight: is there a link? *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):800S–3S.
105. Rolls ET. Functional neuroimaging of umami taste: what makes umami pleasant? *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):804S–13S.
106. Kokrashvili Z, Mosinger B, Margolskee RF. Taste signaling elements expressed in gut enteroendocrine cells regulate nutrient-responsive secretion of gut hormones. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):822S–5S.
107. Akiba Y, Kaunitz JD. Luminal chemosensing and upper gastrointestinal mucosal defenses. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):826S–31S.
108. Kondoh T, Mallick HN, Torii K. Activation of the gut-brain axis by dietary glutamate and physiologic significance in energy homeostasis. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):832S–7S.
109. Tomé D, Schwarz J, Darcel N, Fromentin G. Protein, amino acids, vagus nerve signaling, and the brain. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):838S–43S.
110. Yamamoto S, Tomoe M, Toyama K, Kawai M, Uneyama H. Can dietary supplementation of monosodium glutamate improve the health of the elderly? *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):844S–9S.
111. Burrin DG, Stoll B. Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):850S–6S.
112. Brosnan ME, Brosnan JT. Hepatic glutamate metabolism: a tale of 2 hepatocytes. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):857S–61S.
113. Stanley CA. Regulation of glutamate metabolism and insulin secretion by glutamate dehydrogenase in hypoglycemic children. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):862S–6S.
114. Hawkins RA. The blood-brain barrier and glutamate. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):867S–74S.
115. Magistretti PJ. Role of glutamate in neuron-glia metabolic coupling. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):875S–80S.
116. Fernstrom JD. Symposium summary. *Am J Clin Nutr* 2009;90(suppl):881S–5S.



ARTICLES, COMMUNICATIONS ET POSTERS

Articles scientifiques

- **Boutry C.**, Matsumoto H., Airinei G., Benamouzig R., Tomé D., Blachier F., Bos C., *Monosodium glutamate raises antral distension and plasma amino acid after a standard meal in humans*. American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology. 2011 Jan; 300(1): G137-45. Epub 2010 Oct 28.
- **Boutry C.**, Bos C., Matsumoto H., Even P., Azzout-Marniche D., Tomé D., Blachier F. *Effects of monosodium glutamate supplementation on glutamine metabolism in adult rats*. Frontiers in Bioscience (Elite Ed). 2011 Jan 1; 3: 279-90.
- Deglaire A., Fromentin C., Fouillet H., Airinei G., Gaudichon C., **Boutry C.**, Benamouzig R., Moughan PJ., Tomé D. and Bos C. *Hydrolyzed dietary casein as compared with the intact protein reduces postprandial peripheral, but not whole-body, uptake of nitrogen in humans*. American Journal of Clinical Nutrition. 2009 Oct; 90(4): 1011-22. Epub 2009 Aug 19.
- **Boutry C.**, Chevalier L., Fouillet H., Mariotti F., Blachier F., Tomé D., Bos C. *Rapeseed and milk protein exhibit a similar postprandial retention but very different patterns of dietary N tissue accretion in rats*. British Journal of Nutrition. Soumis

Articles de revue

- Blachier F., Lancha AH Jr., **Boutry C.** and Tomé D. *Alimentary proteins, amino acids and cholesterolemia*. Amino acids. 2010 Jan; 38(1): 15-22. Epub 2009 Jan 30.
- Blachier F., **Boutry C.**, Bos C. and Tomé D. *Metabolism and functions of L-glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines*. American Journal of Clinical Nutrition. 2009 Sep; 90(3): 814S-821S. Epub 2009 Jul 1.
- **Boutry C.**, Bos C. and Tomé D. *Les besoins en acides aminés*. Nutrition Clinique et Métabolisme. 2008; 22:151-60 (Français).

Communications orales

- **Boutry C.**, Chevalier L., Fouillet H., Blachier F., Gaudichon C., Tomé D. and Bos C. *Rapeseed and milk protein induce different patterns of dietary nitrogen tissue accretion despite a similar postprandial retention in rats*. Experimental Biology 2008, San Diego, CA.
- **Boutry C.**, Matsumoto H., Airinei G., Benamouzig R., Tomé D., Blachier F., and Bos C. *Le glutamate de sodium ralentit la vidange gastrique d'un repas sans conséquences en termes de métabolisme postprandial et de satiété chez l'homme*. Société Française de Nutrition 2009, Montpellier, France.

Communications affichées

- **Boutry C.**, Chevalier L., Fouillet H., Fénart E., Evrard J., Gaudichon C., Tomé D. and Bos C. *Effect of rapeseed protein on tissue postprandial protein metabolism in rats*. Société Française de Nutrition 2007, Lille, France.
- **Boutry C.**, Bos C., Matsumoto H., Azzout-Marniche D., Tomé D. and Blachier F. *Effet d'une supplémentation en glutamate de sodium sur la physiologie gastro-intestinale et le métabolisme chez le rat*. Société Française de Nutrition 2008, Brest, France.
- **Boutry C.**, Bos C., Matsumoto H., Azzout-Marniche D., Tomé D. and Blachier F. *Influence of monosodium glutamate supplementation on plasma glutamine and on enzymes related to glutamine metabolism in rats*. Experimental Biology 2009, New Orleans, LA.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adibi, S. A. and D. W. Mercer (1973). "Protein digestion in human intestine as reflected in luminal, mucosal, and plasma amino acid concentrations after meals." J Clin Invest **52**(7): 1586-94.
- AFSSA (2008). Apport en protéines : consommation, qualité, besoins et recommandations, AFSSA.
- Allen, D. H., J. Delohery, et al. (1987). "Monosodium L-glutamate-induced asthma." J Allergy Clin Immunol **80**(4): 530-7.
- Andriamihaja, M., A. M. Davila, et al. (2010). "Colon luminal content and epithelial cell morphology are markedly modified in rats fed with a high protein diet." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.
- Anthony, J. C., T. G. Anthony, et al. (2000). "Orally administered leucine stimulates protein synthesis in skeletal muscle of postabsorptive rats in association with increased eIF4F formation." J Nutr **130**(2): 139-45.
- Anthony, T. G., J. C. Anthony, et al. (2001). "Oral administration of leucine stimulates ribosomal protein mRNA translation but not global rates of protein synthesis in the liver of rats." J Nutr **131**(4): 1171-6.
- Ardawi, M. S., M. F. Majzoub, et al. (1991). "Maximal activity of phosphate-dependent glutaminase and glutamine metabolism in septic rats." J Lab Clin Med **118**(1): 26-32.
- Ardawi, M. S. and E. A. Newsholme (1985). "Fuel utilization in colonocytes of the rat." Biochem J **231**(3): 713-9.
- Ashy, A. A., M. Salleh, et al. (1988). "Glucose, glutamine, and ketone-body metabolism in human enterocytes." Metabolism **37**(6): 602-9.
- Bachmann, C., S. Krahenbuhl, et al. (1982). "Purification and properties of acetyl-CoA:L-glutamate N-acetyltransferase from human liver." Biochem J **205**(1): 123-7.
- Bateman, D. N. and T. A. Whittingham (1982). "Measurement of gastric emptying by real-time ultrasound." Gut **23**(6): 524-7.
- Battezzati, A., D. J. Brillon, et al. (1995). "Oxidation of glutamic acid by the splanchnic bed in humans." Am J Physiol **269**(2 Pt 1): E269-76.
- Beauchamp, G. K. (2009). "Sensory and receptor responses to umami: an overview of pioneering work." Am J Clin Nutr **90**(3): 723S-727S.
- Bellisle, F. (1998). "Effects of monosodium glutamate on human food palatability." Ann N Y Acad Sci **855**: 438-41.
- Bellisle, F. (1999). "Glutamate and the UMAMI taste: sensory, metabolic, nutritional and behavioural considerations. A review of the literature published in the last 10 years." Neurosci Biobehav Rev **23**(3): 423-38.
- Bellisle, F., A. M. Dalix, et al. (1996). "Monosodium glutamate affects mealtime food selection in diabetic patients." Appetite **26**(3): 267-75.
- Berteloot, A. (1984). "Characteristics of glutamic acid transport by rabbit intestinal brush-border membrane vesicles. Effects of Na⁺-, K⁺- and H⁺-gradients." Biochim Biophys Acta **775**(2): 129-40.
- Berthoud, H. R. (2002). "Multiple neural systems controlling food intake and body weight." Neurosci Biobehav Rev **26**(4): 393-428.
- Berthoud, H. R., N. R. Carlson, et al. (1991). "Topography of efferent vagal innervation of the rat gastrointestinal tract." Am J Physiol **260**(1 Pt 2): R200-7.
- Berthoud, H. R. and T. L. Powley (1992). "Vagal afferent innervation of the rat fundic stomach: morphological characterization of the gastric tension receptor." J Comp Neurol **319**(2): 261-76.

- Bertolo, R. F. and D. G. Burrin (2008). "Comparative aspects of tissue glutamine and proline metabolism." J Nutr **138**(10): 2032S-2039S.
- Bertrand, G., R. Gross, et al. (1992). "Evidence for a glutamate receptor of the AMPA subtype which mediates insulin release from rat perfused pancreas." Br J Pharmacol **106**(2): 354-9.
- Bertrand, G., R. Gross, et al. (1993). "Glutamate stimulates glucagon secretion via an excitatory amino acid receptor of the AMPA subtype in rat pancreas." Eur J Pharmacol **237**(1): 45-50.
- Bertrand, G., R. Puech, et al. (1995). "Glutamate stimulates insulin secretion and improves glucose tolerance in rats." Am J Physiol **269**(3 Pt 1): E551-6.
- Beyreuther, K., H. K. Biesalski, et al. (2007). "Consensus meeting: monosodium glutamate - an update." Eur J Clin Nutr **61**(3): 304-13.
- Bezencon, C., J. le Coutre, et al. (2007). "Taste-signaling proteins are coexpressed in solitary intestinal epithelial cells." Chem Senses **32**(1): 41-9.
- Biolo, G., P. Tessari, et al. (1992). "Leucine and phenylalanine kinetics during mixed meal ingestion: a multiple tracer approach." Am J Physiol **262**(4 Pt 1): E455-63.
- Biolo, G., G. Toigo, et al. (1997). "Metabolic response to injury and sepsis: changes in protein metabolism." Nutrition **13**(9 Suppl): 52S-57S.
- Blachier, F., C. Boutry, et al. (2009). "Metabolism and functions of L-glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines." Am J Clin Nutr **90**(3): 814S-821S.
- Blachier, F., B. Darcy-Vrillon, et al. (1991). "Arginine metabolism in rat enterocytes." Biochim Biophys Acta **1092**(3): 304-10.
- Blachier, F., G. Guihot-Joubrel, et al. (1999). "Portal hyperglutatememia after dietary supplementation with monosodium glutamate in pigs." Digestion **60**(4): 349-57.
- Blachier, F., F. Mariotti, et al. (2007). "Effects of amino acid-derived luminal metabolites on the colonic epithelium and physiopathological consequences." Amino Acids **33**(4): 547-62.
- Bolondi, L., M. Bortolotti, et al. (1985). "Measurement of gastric emptying time by real-time ultrasonography." Gastroenterology **89**(4): 752-9.
- Boon, L., W. J. Geerts, et al. (1999). "High protein diet induces pericentral glutamate dehydrogenase and ornithine aminotransferase to provide sufficient glutamate for pericentral detoxification of ammonia in rat liver lobules." Histochem Cell Biol **111**(6): 445-52.
- Bos, C., B. Stoll, et al. (2005). "Postprandial intestinal and whole body nitrogen kinetics and distribution in piglets fed a single meal." Am J Physiol Endocrinol Metab **288**(2): E436-46.
- Boutry, C., C. Bos, et al. (2008). "Les besoins en acides aminés." Nutr Clin Met **22**: 151-60.
- Braden, B., B. Lembcke, et al. (2007). "13C-breath tests: current state of the art and future directions." Dig Liver Dis **39**(9): 795-805.
- Brand, J. G., J. H. Teeter, et al. (1991). "Transduction mechanisms for the taste of amino acids." Physiol Behav **49**(5): 899-904.
- Bromer, M. Q., S. B. Kantor, et al. (2002). "Simultaneous measurement of gastric emptying with a simple muffin meal using [13C]octanoate breath test and scintigraphy in normal subjects and patients with dyspeptic symptoms." Dig Dis Sci **47**(7): 1657-63.
- Brosnan, J. T. (2003). "Interorgan amino acid transport and its regulation." J Nutr **133**(6 Suppl 1): 2068S-2072S.
- Brosnan, J. T. and M. E. Brosnan (2002). "Hepatic glutaminase--a special role in urea synthesis?" Nutrition **18**(6): 455-7.
- Brosnan, M. E. and J. T. Brosnan (2009). "Hepatic glutamate metabolism: a tale of 2 hepatocytes." Am J Clin Nutr **90**(3): 857S-861S.

- Bufe, B., P. A. Breslin, et al. (2005). "The molecular basis of individual differences in phenylthiocarbamide and propylthiouracil bitterness perception." *Curr Biol* **15**(4): 322-7.
- Burrin, D. G., M. J. Janeczko, et al. (2008). "Emerging aspects of dietary glutamate metabolism in the developing gut." *Asia Pac J Clin Nutr* **17 Suppl 1**: 368-71.
- Burrin, D. G. and B. Stoll (2009). "Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut." *Am J Clin Nutr* **90**(3): 850S-856S.
- Buttgereit, F. and M. D. Brand (1995). "A hierarchy of ATP-consuming processes in mammalian cells." *Biochem J* **312 (Pt 1)**: 163-7.
- Cairns, B. E., X. Dong, et al. (2007). "Systemic administration of monosodium glutamate elevates intramuscular glutamate levels and sensitizes rat masseter muscle afferent fibers." *Pain* **132**(1-2): 33-41.
- Capasso, R. and A. A. Izzo (2008). "Gastrointestinal regulation of food intake: general aspects and focus on anandamide and oleoylethanolamide." *J Neuroendocrinol* **20 Suppl 1**: 39-46.
- Cardona Pera, D. (1998). "[Administration of glutamine and its dipeptides in parenteral nutrition. Which patients are candidates?]." *Nutr Hosp* **13**(1): 8-20.
- Castagna, M., C. Shayakul, et al. (1997). "Molecular characteristics of mammalian and insect amino acid transporters: implications for amino acid homeostasis." *J Exp Biol* **200**(Pt 2): 269-86.
- Castillo, L., T. E. Chapman, et al. (1993). "Dietary arginine uptake by the splanchnic region in adult humans." *Am J Physiol* **265**(4 Pt 1): E532-9.
- Chacko, A. and J. H. Cummings (1988). "Nitrogen losses from the human small bowel: obligatory losses and the effect of physical form of food." *Gut* **29**(6): 809-15.
- Chakravarthi, S., C. E. Jessop, et al. (2006). "The role of glutathione in disulphide bond formation and endoplasmic-reticulum-generated oxidative stress." *EMBO Rep* **7**(3): 271-5.
- Chambon-Savanovitch, C., M. C. Farges, et al. (1999). "Can a glutamate-enriched diet counteract glutamine depletion in endotoxemic rats?" *J Nutr Biochem* **10**(6): 331-7.
- Chaudhari, N., A. M. Landin, et al. (2000). "A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor." *Nat Neurosci* **3**(2): 113-9.
- Chaudhari, N., E. Pereira, et al. (2009). "Taste receptors for umami: the case for multiple receptors." *Am J Clin Nutr* **90**(3): 738S-742S.
- Chaudhari, N., H. Yang, et al. (1996). "The taste of monosodium glutamate: membrane receptors in taste buds." *J Neurosci* **16**(12): 3817-26.
- Chen, L., P. Li, et al. (2009). "Catabolism of nutritionally essential amino acids in developing porcine enterocytes." *Amino Acids* **37**(1): 143-52.
- Chen, Q. Y., S. Alarcon, et al. (2009). "Perceptual variation in umami taste and polymorphisms in TAS1R taste receptor genes." *Am J Clin Nutr* **90**(3): 770S-779S.
- Chenu, C., C. M. Serre, et al. (1998). "Glutamate receptors are expressed by bone cells and are involved in bone resorption." *Bone* **22**(4): 295-9.
- Cherbuy, C., B. Darcy-Vrillon, et al. (1995). "Effect of germfree state on the capacities of isolated rat colonocytes to metabolize n-butyrate, glucose, and glutamine." *Gastroenterology* **109**(6): 1890-9.
- Cheung, W. T., C. M. Lee, et al. (1988). "Neonatal monosodium-L-glutamate treatment reduced lipolytic response of rat epididymal adipose tissue." *Gen Pharmacol* **19**(4): 507-12.
- Chevassus, H., E. Renard, et al. (2002). "Effects of oral monosodium (L)-glutamate on insulin secretion and glucose tolerance in healthy volunteers." *Br J Clin Pharmacol* **53**(6): 641-3.

- Chin, K. W., M. M. Garriga, et al. (1989). "The histamine content of oriental foods." Food Chem Toxicol **27**(5): 283-7.
- Coloso, R. M. and M. H. Stipanuk (1989). "Metabolism of cyst(e)ine in rat enterocytes." J Nutr **119**(12): 1914-24.
- Conn, P. J. (2003). "Physiological roles and therapeutic potential of metabotropic glutamate receptors." Ann N Y Acad Sci **1003**: 12-21.
- Conn, P. J. and J. P. Pin (1997). "Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors." Annu Rev Pharmacol Toxicol **37**: 205-37.
- Corcelli, A., G. Prezioso, et al. (1982). "Electroneutral Na⁺/dicarboxylic amino acid cotransport in rat intestinal brush border membrane vesicles." Biochim Biophys Acta **689**(1): 97-105.
- Covasa, M., R. C. Ritter, et al. (2000). "NMDA receptor participation in control of food intake by the stomach." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **278**(5): R1362-8.
- Cremin, J. D., Jr., M. D. Fitch, et al. (2003). "Glucose alleviates ammonia-induced inhibition of short-chain fatty acid metabolism in rat colonic epithelial cells." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol **285**(1): G105-14.
- Curthoys, N. P. and M. Watford (1995). "Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism." Annu Rev Nutr **15**: 133-59.
- Cynober, L. A. (2002). "Plasma amino acid levels with a note on membrane transport: characteristics, regulation, and metabolic significance." Nutrition **18**(9): 761-6.
- Damak, S., M. Rong, et al. (2003). "Detection of sweet and umami taste in the absence of taste receptor T1r3." Science **301**(5634): 850-3.
- Dangin, M., Y. Boirie, et al. (2001). "The digestion rate of protein is an independent regulating factor of postprandial protein retention." Am J Physiol Endocrinol Metab **280**(2): E340-8.
- Darcy-Vrillon, B., C. Cherbuy, et al. (1996). "Short chain fatty acid and glucose metabolism in isolated pig colonocytes: modulation by NH₄⁺." Mol Cell Biochem **156**(2): 145-51.
- Darcy-Vrillon, B., M. T. Morel, et al. (1993). "Metabolic characteristics of pig colonocytes after adaptation to a high fiber diet." J Nutr **123**(2): 234-43.
- Dardevet, D., C. Sornet, et al. (2000). "Stimulation of in vitro rat muscle protein synthesis by leucine decreases with age." J Nutr **130**(11): 2630-5.
- Dawson, R., M. A. Pelleymounter, et al. (1997). "Attenuation of leptin-mediated effects by monosodium glutamate-induced arcuate nucleus damage." Am J Physiol **273**(1 Pt 1): E202-6.
- de Graaf, C., W. A. Blom, et al. (2004). "Biomarkers of satiation and satiety." Am J Clin Nutr **79**(6): 946-61.
- de Souza, C. T., W. M. Nunes, et al. (2003). "Insulin secretion in monosodium glutamate (MSG) obese rats submitted to aerobic exercise training." Physiol Chem Phys Med NMR **35**(1): 43-53.
- de Souza, H. M., G. R. Borba-Murad, et al. (2001). "Rat liver responsiveness to gluconeogenic substrates during insulin-induced hypoglycemia." Braz J Med Biol Res **34**(6): 771-7.
- Delay, E. R., N. P. Hernandez, et al. (2006). "Sucrose and monosodium glutamate taste thresholds and discrimination ability of T1R3 knockout mice." Chem Senses **31**(4): 351-7.
- Dillon, J. C. (1991). "L'acide glutamique." Cahiers de nutrition et de di  t  tique **26**(2): 157-162.
- Dingledine, R. and P. J. Conn (2000). "Peripheral glutamate receptors: molecular biology and role in taste sensation." J Nutr **130**(4S Suppl): 1039S-42S.

- Duee, P. H., B. Darcy-Vrillon, et al. (1995). "Fuel selection in intestinal cells." Proc Nutr Soc **54**(1): 83-94.
- Ebert, A. G. (2009). "Evidence that MSG does not induce obesity." Obesity (Silver Spring) **17**(4): 629-30; author reply 630-1.
- Eisenbrand, G. (2006). "The potential involvement of glutamate ingestion in chronic neurodegenerative diseases. Opinion of the Senate Commission on Food Safety (SKLM) of the German Research Foundation (DFG)-(shortened version)." Mol Nutr Food Res **50**(12): 1239-43.
- Erickson, R. H., J. R. Gum, Jr., et al. (1995). "Regional expression and dietary regulation of rat small intestinal peptide and amino acid transporter mRNAs." Biochem Biophys Res Commun **216**(1): 249-57.
- Evans, M. E., D. P. Jones, et al. (2005). "Glutamine inhibits cytokine-induced apoptosis in human colonic epithelial cells via the pyrimidine pathway." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol **289**(3): G388-96.
- Fan, M. Z., J. C. Matthews, et al. (2004). "Expression of apical membrane L-glutamate transporters in neonatal porcine epithelial cells along the small intestinal crypt-villus axis." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol **287**(2): G385-98.
- FAO/WHO (1971). "Evaluation of food additives. Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some extraction solvents and certain other substances; and a review of the technological efficacy of some antimicrobial agents. Fourteenth report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, 24 June-2 July 1970." FAO Nutr Meet Rep Ser(48): 1-36.
- FAO/WHO (1974). "Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and of specifications. Seventeenth report of the joint FAO-WHO Expert Committee on Food Additives." World Health Organ Tech Rep Ser **539**: 1-40.
- FASEB (1995). "Executive summary from the report: analysis of adverse reactions to monosodium glutamate (MSG)." J Nutr **125**(11): 2891S-2906S.
- Felig, P., J. Wahren, et al. (1973). "Evidence of inter-organ amino-acid transport by blood cells in humans." Proc Natl Acad Sci U S A **70**(6): 1775-9.
- Fernstrom, J. D. (1994). "Dietary amino acids and brain function." J Am Diet Assoc **94**(1): 71-7.
- Fernstrom, J. D. (2000). "Pituitary hormone secretion in normal male humans: acute responses to a large, oral dose of monosodium glutamate." J Nutr **130**(4S Suppl): 1053S-7S.
- Fernstrom, J. D., J. L. Cameron, et al. (1996). "Short-term neuroendocrine effects of a large oral dose of monosodium glutamate in fasting male subjects." J Clin Endocrinol Metab **81**(1): 184-91.
- Firmansyah, A., D. Penn, et al. (1989). "Isolated colonocyte metabolism of glucose, glutamine, n-butyrate, and beta-hydroxybutyrate in malnutrition." Gastroenterology **97**(3): 622-9.
- Folkers, K., S. Shizukuishi, et al. (1981). "Biochemical evidence for a deficiency of vitamin B6 in subjects reacting to monosodium L-glutamate by the Chinese restaurant syndrome." Biochem Biophys Res Commun **100**(3): 972-7.
- Freeman, M. (2006). "Reconsidering the effects of monosodium glutamate: a literature review." J Am Acad Nurse Pract **18**(10): 482-6.
- Fukushima, D., H. Doi, et al. (2010). "Glutamate exocrine dynamics augmented by plasma glutamine and the distribution of amino acid transporters of the rat pancreas." J Physiol Pharmacol **61**(3): 265-71.
- Fuller, J. L. (1974). "Single-locus control of saccharin preference in mice." J Hered **65**(1): 33-6.

- Gebhardt, R., A. Baldysiak-Figiel, et al. (2007). "Hepatocellular expression of glutamine synthetase: an indicator of morphogen actions as master regulators of zonation in adult liver." Prog Histochem Cytochem **41**(4): 201-66.
- Gebhardt, R. and D. Mecke (1983). "Heterogeneous distribution of glutamine synthetase among rat liver parenchymal cells in situ and in primary culture." Embo J **2**(4): 567-70.
- Geha, R. S., A. Beiser, et al. (2000). "Multicenter, double-blind, placebo-controlled, multiple-challenge evaluation of reported reactions to monosodium glutamate." J Allergy Clin Immunol **106**(5): 973-80.
- Geha, R. S., A. Beiser, et al. (2000). "Review of alleged reaction to monosodium glutamate and outcome of a multicenter double-blind placebo-controlled study." J Nutr **130**(4S Suppl): 1058S-62S.
- Giaroni, C., E. Zanetti, et al. (2000). "Glutamate receptors of the AMPA type modulate neurotransmitter release and peristalsis in the guinea-pig isolated colon." Life Sci **67**(14): 1747-57.
- Gibala, M. J. (2001). "Regulation of skeletal muscle amino acid metabolism during exercise." Int J Sport Nutr Exerc Metab **11**(1): 87-108.
- Gibson, J. A., G. E. Sladen, et al. (1976). "Protein absorption and ammonia production: the effects of dietary protein and removal of the colon." Br J Nutr **35**(1): 61-5.
- Gill, S. S., R. W. Mueller, et al. (2000). "Potential target sites in peripheral tissues for excitatory neurotransmission and excitotoxicity." Toxicol Pathol **28**(2): 277-84.
- Gill, S. S. and O. M. Pulido (2001). "Glutamate receptors in peripheral tissues: current knowledge, future research, and implications for toxicology." Toxicol Pathol **29**(2): 208-23.
- Gonoi, T., N. Mizuno, et al. (1994). "Functional neuronal ionotropic glutamate receptors are expressed in the non-neuronal cell line MIN6." J Biol Chem **269**(25): 16989-92.
- Graham, T. E. and D. A. MacLean (1998). "Ammonia and amino acid metabolism in skeletal muscle: human, rodent and canine models." Med Sci Sports Exerc **30**(1): 34-46.
- Graham, T. E., V. Sgro, et al. (2000). "Glutamate ingestion: the plasma and muscle free amino acid pools of resting humans." Am J Physiol Endocrinol Metab **278**(1): E83-9.
- Grossmann, J., S. Mohr, et al. (1998). "Sequential and rapid activation of select caspases during apoptosis of normal intestinal epithelial cells." Am J Physiol **274**(6 Pt 1): G1117-24.
- Guihot, G., F. Blachier, et al. (1997). "Effect of an elemental vs a complex diet on L-citrulline production from L-arginine in rat isolated enterocytes." JPEN J Parenter Enteral Nutr **21**(6): 316-23.
- Hagenfeldt, L., S. Eriksson, et al. (1980). "Influence of leucine on arterial concentrations and regional exchange of amino acids in healthy subjects." Clin Sci (Lond) **59**(3): 173-81.
- Haisch, M., N. K. Fukagawa, et al. (2000). "Oxidation of glutamine by the splanchnic bed in humans." Am J Physiol Endocrinol Metab **278**(4): E593-602.
- Hardy, G., S. J. Bevan, et al. (1993). "Stability of glutamine in parenteral feeding solutions." Lancet **342**(8864): 186.
- Harper, A. E., R. H. Miller, et al. (1984). "Branched-chain amino acid metabolism." Annu Rev Nutr **4**: 409-54.
- Haussinger, D. (1983). "Hepatocyte heterogeneity in glutamine and ammonia metabolism and the role of an intercellular glutamine cycle during ureogenesis in perfused rat liver." Eur J Biochem **133**(2): 269-75.
- Haussinger, D., H. Sies, et al. (1985). "Functional hepatocyte heterogeneity in ammonia metabolism. The intercellular glutamine cycle." J Hepatol **1**(1): 3-14.

- Hawkins, R. A. (2009). "The blood-brain barrier and glutamate." Am J Clin Nutr **90**(3): 867S-874S.
- Hays, S. P., J. M. Ordonez, et al. (2007). "Dietary glutamate is almost entirely removed in its first pass through the splanchnic bed in premature infants." Pediatr Res **62**(3): 353-6.
- He, K., L. Zhao, et al. (2008). "Association of monosodium glutamate intake with overweight in Chinese adults: the INTERMAP Study." Obesity (Silver Spring) **16**(8): 1875-80.
- Hellstrom, P. M., P. Gryback, et al. (2006). "The physiology of gastric emptying." Best Pract Res Clin Anaesthesiol **20**(3): 397-407.
- Henslee, J. G. and M. E. Jones (1982). "Ornithine synthesis from glutamate in rat small intestinal mucosa." Arch Biochem Biophys **219**(1): 186-97.
- Hermanussen, M., A. P. Garcia, et al. (2006). "Obesity, voracity, and short stature: the impact of glutamate on the regulation of appetite." Eur J Clin Nutr **60**(1): 25-31.
- Hermanussen, M. and J. A. Tresguerres (2003). "Does high glutamate intake cause obesity?" J Pediatr Endocrinol Metab **16**(7): 965-8.
- Hermanussen, M. and J. A. Tresguerres (2003). "Does the thrifty phenotype result from chronic glutamate intoxication? A hypothesis." J Perinat Med **31**(6): 489-95.
- Hermanussen, M. and J. A. Tresguerres (2005). "A new anti-obesity drug treatment: first clinical evidence that, antagonising glutamate-gated Ca²⁺ ion channels with memantine normalises binge-eating disorders." Econ Hum Biol **3**(2): 329-37.
- Hewagama, A., H. I. Guy, et al. (1999). "Functional linkage between the glutaminase and synthetase domains of carbamoyl-phosphate synthetase. Role of serine 44 in carbamoyl-phosphate synthetase-aspartate carbamoyltransferase-dihydroorotase (cad)." J Biol Chem **274**(40): 28240-5.
- Hinoi, E., T. Takarada, et al. (2004). "Glutamate signaling system in bone." J Pharmacol Sci **94**(3): 215-20.
- Hirata, A. E., I. S. Andrade, et al. (1997). "Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake." Braz J Med Biol Res **30**(5): 671-4.
- Holt, S., J. Cervantes, et al. (1986). "Measurement of gastric emptying rate in humans by real-time ultrasound." Gastroenterology **90**(4): 918-23.
- Howell, J. A., A. D. Matthews, et al. (2001). "Molecular identification of high-affinity glutamate transporters in sheep and cattle forestomach, intestine, liver, kidney, and pancreas." J Anim Sci **79**(5): 1329-36.
- Howell, J. A., A. D. Matthews, et al. (2003). "Content of ileal EAAC1 and hepatic GLT-1 high-affinity glutamate transporters is increased in growing vs. nongrowing lambs, paralleling increased tissue D- and L-glutamate, plasma glutamine, and alanine concentrations." J Anim Sci **81**(4): 1030-9.
- Hoy, M., P. Maechler, et al. (2002). "Increase in cellular glutamate levels stimulates exocytosis in pancreatic beta-cells." FEBS Lett **531**(2): 199-203.
- Hveem, K., K. L. Jones, et al. (1996). "Scintigraphic measurement of gastric emptying and ultrasonographic assessment of antral area: relation to appetite." Gut **38**(6): 816-21.
- Iantomasi, T., F. Favilli, et al. (1997). "Glutathione transport system in human small intestine epithelial cells." Biochim Biophys Acta **1330**(2): 274-83.
- Ikeda, K. (2002). "New seasonings." Chem Senses **27**(9): 847-9.
- Inagaki, N., H. Kuromi, et al. (1995). "Expression and role of ionotropic glutamate receptors in pancreatic islet cells." Faseb J **9**(8): 686-91.
- Ishii, R., S. Yamaguchi, et al. (1992). "Measures of taste discriminability for sweet, salty and umami stimuli: Japanese versus Americans." Chem Senses **17**: 365-80.

- James, L. A., P. G. Lunn, et al. (1998). "Glutamine metabolism in the gastrointestinal tract of the rat assess by the relative activities of glutaminase (EC 3.5.1.2) and glutamine synthetase (EC 6.3.1.2)." Br J Nutr **79**(4): 365-72.
- Janeczko, M. J., B. Stoll, et al. (2007). "Extensive gut metabolism limits the intestinal absorption of excessive supplemental dietary glutamate loads in infant pigs." J Nutr **137**(11): 2384-90.
- Jinap, S. and P. Hajeb (2010). "Glutamate. Its applications in food and contribution to health." Appetite **55**(1): 1-10.
- Jones, M. E. (1985). "Conversion of glutamate to ornithine and proline: pyrroline-5-carboxylate, a possible modulator of arginine requirements." J Nutr **115**(4): 509-15.
- Kaplan, J. M., A. C. Spector, et al. (1992). "Dynamics of gastric emptying during and after stomach fill." Am J Physiol **263**(4 Pt 2): R813-9.
- Katsanos, C. S., H. Kobayashi, et al. (2006). "A high proportion of leucine is required for optimal stimulation of the rate of muscle protein synthesis by essential amino acids in the elderly." Am J Physiol Endocrinol Metab **291**(2): E381-7.
- Kekuda, R., V. Torres-Zamorano, et al. (1997). "Molecular and functional characterization of intestinal Na(+)-dependent neutral amino acid transporter B0." Am J Physiol **272**(6 Pt 1): G1463-72.
- Kelly, A. and C. A. Stanley (2001). "Disorders of glutamate metabolism." Ment Retard Dev Disabil Res Rev **7**(4): 287-95.
- Kemp, M., Y. M. Go, et al. (2008). "Nonequilibrium thermodynamics of thiol/disulfide redox systems: a perspective on redox systems biology." Free Radic Biol Med **44**(6): 921-37.
- Kenney, R. A. (1986). "The Chinese restaurant syndrome: an anecdote revisited." Food Chem Toxicol **24**(4): 351-4.
- Kenney, R. A. and C. S. Tidball (1972). "Human susceptibility to oral monosodium L-glutamate." Am J Clin Nutr **25**(2): 140-6.
- Kerr, G. R., M. Wu-Lee, et al. (1977). "Objectivity of food-symptomatology surveys. Questionnaire on the "Chinese restaurant syndrome"." J Am Diet Assoc **71**(3): 263-8.
- Kerr, G. R., M. Wu-Lee, et al. (1979). "Prevalence of the "Chinese restaurant syndrome"." J Am Diet Assoc **75**(1): 29-33.
- Khropycheva, R., H. Uneyama, et al. (2009). "Dietary monosodium glutamate enhances gastric secretion." J Med Invest **56 Suppl**: 218-23.
- Kight, C. E. and S. E. Fleming (1995). "Transamination processes promote incomplete glutamine oxidation in small intestine epithelial cells." J Nutr Biochem **6**: 27-37.
- Kinnamon, S. C. (2009). "Umami taste transduction mechanisms." Am J Clin Nutr **90**(3): 753S-755S.
- Kinnamon, S. C. and A. Vandenbeuch (2009). "Receptors and transduction of umami taste stimuli." Ann N Y Acad Sci **1170**: 55-9.
- Kondoh, T., H. N. Mallick, et al. (2009). "Activation of the gut-brain axis by dietary glutamate and physiologic significance in energy homeostasis." Am J Clin Nutr **90**(3): 832S-837S.
- Kondoh, T. and K. Torii (2008). "MSG intake suppresses weight gain, fat deposition, and plasma leptin levels in male Sprague-Dawley rats." Physiol Behav **95**(1-2): 135-44.
- Krebs, J. R. (2009). "The gourmet ape: evolution and human food preferences." Am J Clin Nutr **90**(3): 707S-711S.
- Kurihara, K. (2009). "Glutamate: from discovery as a food flavor to role as a basic taste (umami)." Am J Clin Nutr **90**(3): 719S-722S.
- Kurihara, K. and M. Kashiwayanagi (2000). "Physiological studies on umami taste." J Nutr **130**(4S Suppl): 931S-4S.

- Lacey, J. M. and D. W. Wilmore (1990). "Is glutamine a conditionally essential amino acid?" Nutr Rev **48**(8): 297-309.
- Larzabal, A., J. Losada, et al. (1999). "Distribution of the group II metabotropic glutamate receptors (mGluR2/3) in the enteric nervous system of the rat." Neurosci Lett **276**(2): 91-4.
- Le Bacquer, O., H. Nazih, et al. (2001). "Effects of glutamine deprivation on protein synthesis in a model of human enterocytes in culture." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol **281**(6): G1340-7.
- Le Floc'h, N. and B. Seve (2000). "Le devenir des protéines et des acides aminés dans l'intestin du porc: de la digestion à l'apparition dans la veine porte." INRA Prod Anim **13**(5): 303-314.
- Lee, J. S., M. Camilleri, et al. (2000). "A valid, accurate, office based non-radioactive test for gastric emptying of solids." Gut **46**(6): 768-73.
- Li, X. (2009). "T1R receptors mediate mammalian sweet and umami taste." Am J Clin Nutr **90**(3): 733S-737S.
- Li, X., L. Staszewski, et al. (2002). "Human receptors for sweet and umami taste." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(7): 4692-6.
- Lindemann, B., Y. Ogiwara, et al. (2002). "The discovery of umami." Chem Senses **27**(9): 843-4.
- Liu, H. P., S. S. Tay, et al. (1997). "Localization of glutamate receptor subunits of the alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate (AMPA) type in the pancreas of newborn guinea pigs." Pancreas **14**(4): 360-8.
- Liu, R. and Q. Zhou (2010). "Fluxes and Influencing Factors of Ammonia Emission from Monosodium Glutamate Production in Shenyang, China." Bull Environ Contam Toxicol.
- Lugaz, O., A. M. Pillias, et al. (2002). "A new specific ageusia: some humans cannot taste L-glutamate." Chem Senses **27**(2): 105-15.
- Luscombe-Marsh, N. D., A. J. Smeets, et al. (2009). "The addition of monosodium glutamate and inosine monophosphate-5 to high-protein meals: effects on satiety, and energy and macronutrient intakes." Br J Nutr: 1-9.
- Lynch, C. J., B. J. Patson, et al. (2002). "Leucine is a direct-acting nutrient signal that regulates protein synthesis in adipose tissue." Am J Physiol Endocrinol Metab **283**(3): E503-13.
- MacDonald, M. J. and L. A. Fahien (2000). "Glutamate is not a messenger in insulin secretion." J Biol Chem **275**(44): 34025-7.
- Mace, O. J., J. Affleck, et al. (2007). "Sweet taste receptors in rat small intestine stimulate glucose absorption through apical GLUT2." J Physiol **582**(Pt 1): 379-92.
- Mace, O. J., N. Lister, et al. (2009). "An energy supply network of nutrient absorption coordinated by calcium and T1R taste receptors in rat small intestine." J Physiol **587**(Pt 1): 195-210.
- Macho, L., M. Fickova, et al. (2000). "Late effects of postnatal administration of monosodium glutamate on insulin action in adult rats." Physiol Res **49 Suppl 1**: S79-85.
- Madej, M., T. Lundh, et al. (2002). "Activity of enzymes involved in energy production in the small intestine during suckling-weaning transition of pigs." Biol Neonate **82**(1): 53-60.
- Maenz, D. D. and J. F. Patience (1992). "L-threonine transport in pig jejunal brush border membrane vesicles. Functional characterization of the unique system B in the intestinal epithelium." J Biol Chem **267**(31): 22079-86.
- Maes, B. D., Y. F. Ghos, et al. (1994). "Combined carbon-13-glycine/carbon-14-octanoic acid breath test to monitor gastric emptying rates of liquids and solids." J Nucl Med **35**(5): 824-31.

- Maga, J. A. (1983). "Flavor potentiators." Crit Rev Food Sci Nutr **18**(3): 231-312.
- Mailliard, M. E., B. R. Stevens, et al. (1995). "Amino acid transport by small intestinal, hepatic, and pancreatic epithelia." Gastroenterology **108**(3): 888-910.
- Mallick, H. N. (2007). "Understanding safety of glutamate in food and brain." Indian J Physiol Pharmacol **51**(3): 216-34.
- Maly, I. P. and D. Sasse (1991). "Microquantitative analysis of the intra-acinar profiles of glutamate dehydrogenase in rat liver." J Histochem Cytochem **39**(8): 1121-4.
- Martensson, J., A. Jain, et al. (1990). "Glutathione is required for intestinal function." Proc Natl Acad Sci U S A **87**(5): 1715-9.
- Martich, G. D., A. J. Boujoukos, et al. (1993). "Response of man to endotoxin." Immunobiology **187**(3-5): 403-16.
- Maruyama, Y., E. Pereira, et al. (2006). "Umami responses in mouse taste cells indicate more than one receptor." J Neurosci **26**(8): 2227-34.
- Masola, B., T. J. Peters, et al. (1985). "Transamination pathways influencing L-glutamine and L-glutamate oxidation by rat enterocyte mitochondria and the subcellular localization of L-alanine aminotransferase and L-aspartate aminotransferase." Biochim Biophys Acta **843**(1-2): 137-43.
- Mathey, M. F., E. Siebelink, et al. (2001). "Flavor enhancement of food improves dietary intake and nutritional status of elderly nursing home residents." J Gerontol A Biol Sci Med Sci **56**(4): M200-5.
- Mathis, C., T. H. Moran, et al. (1998). "Load-sensitive rat gastric vagal afferents encode volume but not gastric nutrients." Am J Physiol **274**(2 Pt 2): R280-6.
- Matthews, D. E., M. A. Marano, et al. (1993). "Splanchnic bed utilization of glutamine and glutamic acid in humans." Am J Physiol **264**(6 Pt 1): E848-54.
- Maughan, R. J. and J. B. Leiper (1996). "Methods for the assessment of gastric emptying in humans: an overview." Diabet Med **13**(9 Suppl 5): S6-10.
- Moinard, C. and L. Cynober (2007). "Citrulline: a new player in the control of nitrogen homeostasis." J Nutr **137**(6 Suppl 2): 1621S-1625S.
- Moore, K. A. and I. R. Lemischka (2006). "Stem cells and their niches." Science **311**(5769): 1880-5.
- Moorman, A. F., P. A. de Boer, et al. (1994). "Hepatic glutaminase mRNA is confined to part of the urea cycle domain in the adult rodent liver lobule." FEBS Lett **356**(1): 76-80.
- Moorman, A. F., J. L. Vermeulen, et al. (1989). "Localization of ammonia-metabolizing enzymes in human liver: ontogenesis of heterogeneity." Hepatology **9**(3): 367-72.
- Mordrelle, A., J. F. Huneau, et al. (1997). "Sodium-dependent and -independent transport of L-glutamate in the rat intestinal crypt-like cell line IEC-17." Biochem Biophys Res Commun **233**(1): 244-7.
- Moroni, F., S. Luzzi, et al. (1986). "The presence of N-methyl-D-aspartate-type receptors for glutamic acid in the guinea pig myenteric plexus." Neurosci Lett **68**(1): 57-62.
- Mortensen, P. B. and M. R. Clausen (1996). "Short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease." Scand J Gastroenterol Suppl **216**: 132-48.
- Moult, P. R. (2009). "Neuronal glutamate and GABAA receptor function in health and disease." Biochem Soc Trans **37**(Pt 6): 1317-22.
- Mourtzakis, M. and T. E. Graham (2002). "Glutamate ingestion and its effects at rest and during exercise in humans." J Appl Physiol **93**(4): 1251-9.
- Naim, M., I. Ohara, et al. (1991). "Interaction of MSG taste with nutrition: perspectives in consummatory behavior and digestion." Physiol Behav **49**(5): 1019-24.
- Neame, K. D. and G. Wiseman (1957). "The transamination of glutamic and aspartic acids during absorption by the small intestine of the dog in vivo." J Physiol **135**(2): 442-50.

- Nelson, G., J. Chandrashekar, et al. (2002). "An amino-acid taste receptor." Nature **416**(6877): 199-202.
- Newsholme, P., K. Bender, et al. (2007). "Amino acid metabolism, insulin secretion and diabetes." Biochem Soc Trans **35**(Pt 5): 1180-6.
- Newsholme, P., L. Brennan, et al. (2005). "New insights into amino acid metabolism, beta-cell function and diabetes." Clin Sci (Lond) **108**(3): 185-94.
- Newsholme, P., M. M. Lima, et al. (2003). "Glutamine and glutamate as vital metabolites." Braz J Med Biol Res **36**(2): 153-63.
- Newsholme, P., J. Procopio, et al. (2003). "Glutamine and glutamate--their central role in cell metabolism and function." Cell Biochem Funct **21**(1): 1-9.
- Niiijima, A. (1991). "Effects of oral and intestinal stimulation with umami substance on gastric vagus activity." Physiol Behav **49**(5): 1025-8.
- Niiijima, A. (2000). "Reflex effects of oral, gastrointestinal and hepatoportal glutamate sensors on vagal nerve activity." J Nutr **130**(4S Suppl): 971S-3S.
- Niiijima, A., T. Togiya, et al. (1990). "Cephalic-phase insulin release induced by taste stimulus of monosodium glutamate (umami taste)." Physiol Behav **48**(6): 905-8.
- Ohara, I., S. Otsuka, et al. (1988). "Cephalic phase response of pancreatic exocrine secretion in conscious dogs." Am J Physiol **254**(3 Pt 1): G424-8.
- Olney, J. W. (1971). "Glutamate-induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus. An electron microscopic study." J Neuropathol Exp Neurol **30**(1): 75-90.
- Olney, J. W. and L. G. Sharpe (1969). "Brain lesions in an infant rhesus monkey treated with monosodium glutamate." Science **166**(903): 386-8.
- Opal, S. M. (2010). "Endotoxins and other sepsis triggers." Contrib Nephrol **167**: 14-24.
- Oudemans-van Straaten, H. M., R. J. Bosman, et al. (2001). "Plasma glutamine depletion and patient outcome in acute ICU admissions." Intensive Care Med **27**(1): 84-90.
- Patton, A. J., P. G. Genever, et al. (1998). "Expression of an N-methyl-D-aspartate-type receptor by human and rat osteoblasts and osteoclasts suggests a novel glutamate signaling pathway in bone." Bone **22**(6): 645-9.
- Perlas, A., V. W. Chan, et al. (2009). "Ultrasound assessment of gastric content and volume." Anesthesiology **111**(1): 82-9.
- Phillips, R. J. and T. L. Powley (1996). "Gastric volume rather than nutrient content inhibits food intake." Am J Physiol **271**(3 Pt 2): R766-9.
- Pin, J. P. and R. Duvoisin (1995). "The metabotropic glutamate receptors: structure and functions." Neuropharmacology **34**(1): 1-26.
- Pinkus, L. M. and H. G. Windmueller (1977). "Phosphate-dependent glutaminase of small intestine: localization and role in intestinal glutamine metabolism." Arch Biochem Biophys **182**(2): 506-17.
- Platt, S. R. (2007). "The role of glutamate in central nervous system health and disease--a review." Vet J **173**(2): 278-86.
- Potier, M., G. Fromentin, et al. (2010). "The satiety effect of disguised liquid preloads administered acutely and differing only in their nutrient content tended to be weaker for lipids but did not differ between proteins and carbohydrates in human subjects." Br J Nutr: 1-9.
- Potten, C. S. (1997). "Epithelial cell growth and differentiation. II. Intestinal apoptosis." Am J Physiol **273**(2 Pt 1): G253-7.
- Rajendran, V. M., J. M. Harig, et al. (1987). "Transport of acidic amino acids by human jejunal brush-border membrane vesicles." Am J Physiol **252**(1 Pt 1): G33-9.

- Raliou, M., A. Wiencis, et al. (2009). "Nonsynonymous single nucleotide polymorphisms in human tas1r1, tas1r3, and mGluR1 and individual taste sensitivity to glutamate." Am J Clin Nutr **90**(3): 789S-799S.
- Rappaport, A. M., Z. J. Borowy, et al. (1954). "Subdivision of hexagonal liver lobules into a structural and functional unit; role in hepatic physiology and pathology." Anat Rec **119**(1): 11-33.
- Reeds, P. J. and D. G. Burrin (2001). "Glutamine and the bowel." J Nutr **131**(9 Suppl): 2505S-8S; discussion 2523S-4S.
- Reeds, P. J., D. G. Burrin, et al. (1996). "Enteral glutamate is almost completely metabolized in first pass by the gastrointestinal tract of infant pigs." Am J Physiol **270**(3 Pt 1): E413-8.
- Reeds, P. J., D. G. Burrin, et al. (2000). "Intestinal glutamate metabolism." J Nutr **130**(4S Suppl): 978S-82S.
- Reeds, P. J., D. G. Burrin, et al. (1997). "Enteral glutamate is the preferential source for mucosal glutathione synthesis in fed piglets." Am J Physiol **273**(2 Pt 1): E408-15.
- Reif-Lehrer, L. (1977). "A questionnaire study of the prevalence of Chinese restaurant syndrome." Fed Proc **36**(5): 1617-23.
- Rennie, M. J., A. Ahmed, et al. (1996). "Glutamine metabolism and transport in skeletal muscle and heart and their clinical relevance." J Nutr **126**(4 Suppl): 1142S-9S.
- Reynolds, W. A., N. Lemkey-Johnston, et al. (1971). "Monosodium glutamate: absence of hypothalamic lesions after ingestion by newborn primates." Science **172**(990): 1342-4.
- Ricci, R., I. Bontempo, et al. (1993). "Real time ultrasonography of the gastric antrum." Gut **34**(2): 173-6.
- Rieu, I., M. Balage, et al. (2006). "Leucine supplementation improves muscle protein synthesis in elderly men independently of hyperaminoacidaemia." J Physiol **575**(Pt 1): 305-15.
- Roediger, W. E. (1982). "Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon." Gastroenterology **83**(2): 424-9.
- Roediger, W. E. and W. Babidge (1997). "Human colonocyte detoxification." Gut **41**(6): 731-4.
- Roig, J. C., V. B. Shenoy, et al. (1995). "Localization of rat small intestine glutamine synthetase using immunofluorescence and in situ hybridization." JPEN J Parenter Enteral Nutr **19**(3): 179-81.
- Rome, S., L. Barbot, et al. (2002). "The regionalization of PepT1, NBAT and EAAC1 transporters in the small intestine of rats are unchanged from birth to adulthood." J Nutr **132**(5): 1009-11.
- Rutten, E. P., M. P. Engelen, et al. (2005). "Skeletal muscle glutamate metabolism in health and disease: state of the art." Curr Opin Clin Nutr Metab Care **8**(1): 41-51.
- Saito, H., T. Terada, et al. (2008). "Regulatory mechanism governing the diurnal rhythm of intestinal H⁺/peptide cotransporter 1 (PEPT1)." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol **295**(2): G395-402.
- San Gabriel, A., T. Maekawa, et al. (2009). "Metabotropic glutamate receptor type 1 in taste tissue." Am J Clin Nutr **90**(3): 743S-746S.
- San Gabriel, A., H. Uneyama, et al. (2005). "Cloning and characterization of a novel mGluR1 variant from vallate papillae that functions as a receptor for L-glutamate stimuli." Chem Senses **30** Suppl 1: i25-6.
- San Gabriel, A. M., T. Maekawa, et al. (2007). "mGluR1 in the fundic glands of rat stomach." FEBS Lett **581**(6): 1119-23.

- Sanaka, M., Y. Urita, et al. (2006). "Comparison between gastric scintigraphy and the [13C]-acetate breath test with Wagner-Nelson analysis in humans." Clin Exp Pharmacol Physiol **33**(12): 1239-43.
- Sanaka, M., T. Yamamoto, et al. (2008). "Retention, fixation, and loss of the [13C] label: a review for the understanding of gastric emptying breath tests." Dig Dis Sci **53**(7): 1747-56.
- SCF (1991). "Reports of the Scientific Committee for Food on a First Series of Food Additives of Various Technological Functions, Commission of the European Communities. Brussels, Belgium." Reports of the Scientific Committee for Food, 25th Series.
- Schaumburg, H. H., R. Byck, et al. (1969). "Monosodium L-glutamate: its pharmacology and role in the Chinese restaurant syndrome." Science **163**(869): 826-8.
- Schiffman, S. S. (2000). "Intensification of sensory properties of foods for the elderly." J Nutr **130**(4S Suppl): 927S-30S.
- Schiffman, S. S., A. E. Frey, et al. (1991). "Taste of glutamate salts in young and elderly subjects: role of inosine 5'-monophosphate and ions." Physiol Behav **49**(5): 843-54.
- Schiffman, S. S., E. A. Sattely-Miller, et al. (1994). "Taste perception of monosodium glutamate (MSG) in foods in young and elderly subjects." Physiol Behav **56**(2): 265-75.
- Schiller, C. M., T. I. Huang, et al. (1977). "Isolation and characterization of four peptide hydrolases from the cytosol of rat intestinal mucosa." Gastroenterology **72**(1): 93-100.
- Schwartz, G. J. and T. H. Moran (1998). "Duodenal nutrient exposure elicits nutrient-specific gut motility and vagal afferent signals in rat." Am J Physiol **274**(5 Pt 2): R1236-42.
- Schwartzstein, R. M., M. Kelleher, et al. (1987). "Airway effects of monosodium glutamate in subjects with chronic stable asthma." J Asthma **24**(3): 167-72.
- Shannon, H. E. and B. D. Sawyer (1989). "Glutamate receptors of the N-methyl-D-aspartate subtype in the myenteric plexus of the guinea pig ileum." J Pharmacol Exp Ther **251**(2): 518-23.
- Shigemura, N., S. Shirosaki, et al. (2009). "Variation in umami perception and in candidate genes for the umami receptor in mice and humans." Am J Clin Nutr **90**(3): 764S-769S.
- Shoveller, A. K., B. Stoll, et al. (2005). "Nutritional and functional importance of intestinal sulfur amino acid metabolism." J Nutr **135**(7): 1609-12.
- Silvester, K. R. and J. H. Cummings (1995). "Does digestibility of meat protein help explain large bowel cancer risk?" Nutr Cancer **24**(3): 279-88.
- Simon, R. A. (1986). "Adverse reactions to food additives." N Engl Reg Allergy Proc **7**(6): 533-42.
- Sinsky, M. and J. Donnerer (1998). "Evidence for a neurotransmitter role of glutamate in guinea pig myenteric plexus neurons." Neurosci Lett **258**(2): 109-12.
- Skerry, T. M. and P. G. Genever (2001). "Glutamate signalling in non-neuronal tissues." Trends Pharmacol Sci **22**(4): 174-81.
- Smith, M. W. and P. S. James (1976). "Amino acid transport by the helicoidal colon of the new-born pig." Biochim Biophys Acta **419**(2): 391-4.
- Soares, A., J. P. Schoffen, et al. (2006). "Effects of the neonatal treatment with monosodium glutamate on myenteric neurons and the intestine wall in the ileum of rats." J Gastroenterol **41**(7): 674-80.
- Souba, W. W., R. J. Smith, et al. (1985). "Glutamine metabolism by the intestinal tract." JPEN J Parenter Enteral Nutr **9**(5): 608-17.
- Stanley, C. A. (2009). "Regulation of glutamate metabolism and insulin secretion by glutamate dehydrogenase in hypoglycemic children." Am J Clin Nutr **90**(3): 862S-866S.

- Stanley, S., K. Wynne, et al. (2005). "Hormonal regulation of food intake." Physiol Rev **85**(4): 1131-58.
- Stegink, L. D., L. J. Filer, Jr., et al. (1973). "Monosodium glutamate metabolism in the neonatal pig: effect of load on plasma, brain, muscle and spinal fluid free amino acid levels." J Nutr **103**(8): 1138-45.
- Stegink, L. D., L. J. Filer, Jr., et al. (1983). "Plasma amino acid concentrations in normal adults fed meals with added monosodium L-glutamate and aspartame." J Nutr **113**(9): 1851-60.
- Stegink, L. D., L. J. Filer, Jr., et al. (1985). "Plasma glutamate concentrations in adult subjects ingesting monosodium L-glutamate in consomme." Am J Clin Nutr **42**(2): 220-5.
- Stoll, B., D. G. Burrin, et al. (1999). "Substrate oxidation by the portal drained viscera of fed piglets." Am J Physiol **277**(1 Pt 1): E168-75.
- Storto, M., U. de Grazia, et al. (2000). "Selective blockade of mGlu5 metabotropic glutamate receptors protects rat hepatocytes against hypoxic damage." Hepatology **31**(3): 649-55.
- Sureda, F., A. Copani, et al. (1997). "Metabotropic glutamate receptor agonists stimulate polyphosphoinositide hydrolysis in primary cultures of rat hepatocytes." Eur J Pharmacol **338**(2): R1-2.
- Svensson, P., B. E. Cairns, et al. (2003). "Glutamate-evoked pain and mechanical allodynia in the human masseter muscle." Pain **101**(3): 221-7.
- Szarka, L. A. and M. Camilleri (2009). "Methods for measurement of gastric motility." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol **296**(3): G461-75.
- Tarasoff, L. and M. F. Kelly (1993). "Monosodium L-glutamate: a double-blind study and review." Food Chem Toxicol **31**(12): 1019-35.
- Thomassen, A., T. T. Nielsen, et al. (1991). "Effects of intravenous glutamate on substrate availability and utilization across the human heart and leg." Metabolism **40**(4): 378-84.
- Tom, A. and K. S. Nair (2006). "Assessment of branched-chain amino Acid status and potential for biomarkers." J Nutr **136**(1 Suppl): 324S-30S.
- Tomoe, M., Y. Inoue, et al. (2009). "Clinical trial of glutamate for the improvement of nutrition and health in the elderly." Ann N Y Acad Sci **1170**: 82-6.
- Toyomasu, Y., E. Mochiki, et al. (2010). "Intragastric monosodium L-glutamate stimulates motility of upper gut via vagus nerve in conscious dogs." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **298**(4): R1125-35.
- Toyono, T., S. Kataoka, et al. (2007). "Expression of group II metabotropic glutamate receptors in rat gustatory papillae." Cell Tissue Res **328**(1): 57-63.
- Toyono, T., Y. Seta, et al. (2002). "Expression of the metabotropic glutamate receptor, mGluR4a, in the taste hairs of taste buds in rat gustatory papillae." Arch Histol Cytol **65**(1): 91-6.
- Toyono, T., Y. Seta, et al. (2003). "Expression of metabotropic glutamate receptor group I in rat gustatory papillae." Cell Tissue Res **313**(1): 29-35.
- Tsai, L. H., L. R. Huang, et al. (1999). "Effects of L-glutamic acid on acid secretion and mucosal blood flow in the rat stomach." Chin J Physiol **42**(3): 181-7.
- Tsai, L. H., W. Tsai, et al. (1994). "Effect of L-glutamic acid on acid secretion and immunohistochemical localization of glutamatergic neurons in the rat stomach." J Neurosci Res **38**(2): 188-95.
- Tsai, P. J. and P. C. Huang (1999). "Circadian variations in plasma and erythrocyte concentrations of glutamate, glutamine, and alanine in men on a diet without and with added monosodium glutamate." Metabolism **48**(11): 1455-60.

- Tsai, P. J. and P. C. Huang (2000). "Circadian variations in plasma and erythrocyte glutamate concentrations in adult men consuming a diet with and without added monosodium glutamate." *J Nutr* **130**(4S Suppl): 1002S-4S.
- Uchiyama, C., M. Mori, et al. (1981). "Subcellular localization and properties of N-acetylglutamate synthase in rat small intestinal mucosa." *J Biochem* **89**(6): 1777-86.
- Uneyama, H., A. S. Gabriel, et al. (2008). "Physiological role of dietary free glutamate in the food digestion." *Asia Pac J Clin Nutr* **17 Suppl 1**: 372-5.
- van de Poll, M. C., M. P. Siroen, et al. (2007). "Interorgan amino acid exchange in humans: consequences for arginine and citrulline metabolism." *Am J Clin Nutr* **85**(1): 167-72.
- van der Velde, P., I. Koslowsky, et al. (1999). "Measurement of gastric emptying during and between meal intake in free-feeding Lewis rats." *Am J Physiol* **276**(2 Pt 2): R597-605.
- Van Hall, G., B. Saltin, et al. (1999). "Muscle protein degradation and amino acid metabolism during prolonged knee-extensor exercise in humans." *Clin Sci (Lond)* **97**(5): 557-67.
- Vasilevskaia, L. S., M. V. Rymshina, et al. (1993). "[Effect of glutamate and combined with inosine monophosphate on gastric secretion]." *Vopr Pitan*(3): 29-33.
- Vaugelade, P., L. Posho, et al. (1994). "Intestinal oxygen uptake and glucose metabolism during nutrient absorption in the pig." *Proc Soc Exp Biol Med* **207**(3): 309-16.
- Verhoeven, S., K. Vanschoonbeek, et al. (2009). "Long-term leucine supplementation does not increase muscle mass or strength in healthy elderly men." *Am J Clin Nutr* **89**(5): 1468-75.
- Wakabayashi, Y., A. Iwashima, et al. (1991). "Enzymological evidence for the indispensability of small intestine in the synthesis of arginine from glutamate. II. N-acetylglutamate synthase." *Arch Biochem Biophys* **291**(1): 9-14.
- Waldhausl, W. (1992). "[Insulin resistance]." *Acta Med Austriaca* **19**(4): 96-100.
- Walker, R. and J. R. Lupien (2000). "The safety evaluation of monosodium glutamate." *J Nutr* **130**(4S Suppl): 1049S-52S.
- Wang, W., X. Zeng, et al. (2010). "Optimal dietary true ileal digestible threonine for supporting the mucosal barrier in small intestine of weanling pigs." *J Nutr* **140**(5): 981-6.
- Watford, M. (1993). "Hepatic glutaminase expression: relationship to kidney-type glutaminase and to the urea cycle." *Faseb J* **7**(15): 1468-74.
- Watford, M., P. Lund, et al. (1979). "Isolation and metabolic characteristics of rat and chicken enterocytes." *Biochem J* **178**(3): 589-96.
- Weaver, C. D., T. L. Yao, et al. (1996). "Differential expression of glutamate receptor subtypes in rat pancreatic islets." *J Biol Chem* **271**(22): 12977-84.
- Weber, F. L., Jr. and G. L. Veach (1979). "The importance of the small intestine in gut ammonium production in the fasting dog." *Gastroenterology* **77**(2): 235-40.
- Williams, A. N. and K. M. Woessner (2009). "Monosodium glutamate 'allergy': menace or myth?" *Clin Exp Allergy* **39**(5): 640-6.
- Windmueller, H. G. (1982). "Glutamine utilization by the small intestine." *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* **53**: 201-37.
- Windmueller, H. G. and A. E. Spaeth (1975). "Intestinal metabolism of glutamine and glutamate from the lumen as compared to glutamine from blood." *Arch Biochem Biophys* **171**(2): 662-72.
- Windmueller, H. G. and A. E. Spaeth (1976). "Metabolism of absorbed aspartate, asparagine, and arginine by rat small intestine in vivo." *Arch Biochem Biophys* **175**(2): 670-6.
- Wu, G. (1998). "Intestinal mucosal amino acid catabolism." *J Nutr* **128**(8): 1249-52.
- Wu, G., F. W. Bazer, et al. (2010). "Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition." *Amino Acids*.

- Wu, G., F. W. Bazer, et al. (2007). "Pharmacokinetics and safety of arginine supplementation in animals." J Nutr **137**(6 Suppl 2): 1673S-1680S.
- Wu, G., A. G. Borbolla, et al. (1994). "The uptake of glutamine and release of arginine, citrulline and proline by the small intestine of developing pigs." J Nutr **124**(12): 2437-44.
- Wu, G., D. A. Knabe, et al. (1994). "Synthesis of citrulline from glutamine in pig enterocytes." Biochem J **299** (Pt 1): 115-21.
- Wu, G. and S. M. Morris, Jr. (1998). "Arginine metabolism: nitric oxide and beyond." Biochem J **336** (Pt 1): 1-17.
- Yamamoto, S., M. Tomoe, et al. (2009). "Can dietary supplementation of monosodium glutamate improve the health of the elderly?" Am J Clin Nutr.
- Yang, W. H., M. A. Drouin, et al. (1997). "The monosodium glutamate symptom complex: assessment in a double-blind, placebo-controlled, randomized study." J Allergy Clin Immunol **99**(6 Pt 1): 757-62.
- Yasumatsu, K., N. Horio, et al. (2009). "Multiple receptors underlie glutamate taste responses in mice." Am J Clin Nutr **90**(3): 747S-752S.
- Yasuo, T., Y. Kusuhara, et al. (2008). "Multiple receptor systems for glutamate detection in the taste organ." Biol Pharm Bull **31**(10): 1833-7.
- Yen, J. T., J. A. Nienaber, et al. (1989). "Oxygen consumption by portal vein-drained organs and by whole animal in conscious growing swine." Proc Soc Exp Biol Med **190**(4): 393-8.
- Young, R. L., A. J. Page, et al. (2007). "Peripheral versus central modulation of gastric vagal pathways by metabotropic glutamate receptor 5." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol **292**(2): G501-11.
- Young, V. R. (1990). "Amino acids and proteins in relation to the nutrition of elderly people." Age Ageing **19**(4): S10-24.
- Zai, H., M. Kusano, et al. (2009). "Monosodium L-glutamate added to a high-energy, high-protein liquid diet promotes gastric emptying." Am J Clin Nutr **89**(1): 431-5.
- Zhao, G. Q., Y. Zhang, et al. (2003). "The receptors for mammalian sweet and umami taste." Cell **115**(3): 255-66.
- Zolotarev, V., R. Khropycheva, et al. (2009). "Effect of free dietary glutamate on gastric secretion in dogs." Ann N Y Acad Sci **1170**: 87-90.