

EL LACTITOL INCREMENTA EL GLUTATION REDUCIDO Y DISMINUYE EL ÓXIDO NÍTRICO EN RATAS SPRAGUE-DAWLEY.

Lactitol Increases Reduced Glutathione and Decreases Nitric Oxide in Sprague Dawley Rats.

Clímaco Cano-Ponce, Mayerlim T. Medina, Daniel Escalona, María E. Vargas, Raquel A. Cano, José R. Cano y Valmore J. Bermúdez.*

*Centro de Investigaciones Endocrino – Metabólicas Dr. Félix Gómez. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. *E-mail: climacoc@hotmail.com. Telefax: +58 261 7597279.*

RESUMEN

Existe un creciente uso de los alcohol-azúcares como el lactitol en la industria de los alimentos. El estrés oxidativo juega un papel importante en la génesis de patologías digestivas que van desde inflamación hasta cáncer. El propósito de este estudio fue determinar el efecto del lactitol sobre el malondialdehído (MDA), óxido nítrico (NO), glutatión reducido (GSH), ácido ascórbico y ácido dehidroascórbico como marcadores del balance oxidación/antioxidación. Para ello se utilizaron 80 ratas macho Sprague-Dawley divididas en cuatro grupos, tres experimentales de 20 animales, a los cuales se les administró por sonda orogástrica, lactitol en dosis de 0,3; 1,0 y 5,0 g/Kg/día durante 12 semanas y un grupo control que recibió solución salina fisiológica por el mismo período de tiempo. El lactitol administrado en dosis de 0,3; 1,0 y 5,0 g/Kg/día produjo un incremento significativo ($P < 0,05$) del GSH ($326,5 \pm 13,0 \mu\text{g/ml}$; $328,5 \pm 9,2 \mu\text{g/ml}$ y $398,2 \pm 11,8 \mu\text{g/ml}$) al ser comparado con sus respectivos valores basales ($285,8 \pm 4,0 \mu\text{g/ml}$; $280,0 \pm 6,2 \mu\text{g/ml}$ y $279,5 \pm 9,1 \mu\text{g/ml}$). El lactitol a dosis de 5 g/Kg/día produjo el más alto incremento de la concentración de GSH y al mismo tiempo provocó una disminución significativa de los niveles de NO ($33,0 \pm 1,2 \mu\text{M}$) cuando se comparó con su concentración basal ($46,2 \pm 2,8 \mu\text{M}$). No fueron observados cambios significativos sobre el resto de los marcadores del balance oxidación/antioxidación. Aunque el lactitol es un alcohol-azúcar que no se absorbe a nivel del tracto gastrointestinal, es posible que los productos finales obtenidos luego de su metabolismo por las bacterias intestinales, induzcan efectos sistémicos que pueden afectar el balance oxidación/antioxidación a favor de la antioxidación.

Palabras clave: Lactitol, GSH, óxido nítrico, balance oxidación/antioxidación.

ABSTRACT

Sugar alcohols such as lactitol are increasingly being used in the food industry. Tissue oxidative stress is an important contributor to the genesis of inflammatory bowel disease and cancer. The purpose of this study was to determine the effect of lactitol on malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), nitric oxide (NO), dehydroascorbic and ascorbic acid as redox markers. Eighty Sprague Dawley rats were divided into four groups; three experimental groups which received lactitol through an oral catheter at doses of 0.3; 1.0; 5 g/kg/day and an experimental group to which saline solution was administered during 12 weeks. Lactitol at doses of 0.3; 1.0; 5 g/kg/day produced a significant increase ($P < 0.05$) on GSH ($326.5 \pm 13.0 \mu\text{g/ml}$; $328.5 \pm 9.2 \mu\text{g/ml}$ y $398.29 \pm 11.8 \mu\text{g/ml}$ respectively) when compared with their respective basal values ($285.8 \pm 4.0 \mu\text{g/ml}$; $280.0 \pm 6.2 \mu\text{g/ml}$ y $279.5 \pm 9.1 \mu\text{g/ml}$). Lactitol dose of 5g/kg/day produced the highest increase on GSH levels and at the same time elicited a significant decrease on NO levels ($33.0 \pm 1.2 \mu\text{M}$) when compared with basal values ($46.2 \pm 2.8 \mu\text{M}$). No significant changes were observed on the remaining redox markers. Although lactitol is a sugar alcohol that is not absorbed in the small bowel, it is possible that its metabolisms end products, under intestinal bacterial effects, alter the redox balance in favor of antioxidants.

Key words: Lactitol, GSH, nitric oxide, redox markers.

INTRODUCCIÓN

El lactitol es un polialcohol usado como edulcorante de baja energía [15], que es poco absorbido a nivel del tracto gastrointestinal y metabolizado por microorganismos residentes en el intestino, cuyos productos aún no han sido plenamente identificados, siendo los más frecuentes, ácidos grasos de ca-

dena corta como acetato, propionato y butirato [5,29], los cuales son absorbidos a nivel intestinal produciendo efectos sobre el metabolismo energético [20,21] y sobre el sistema inmunitario [6]. El lactitol ha sido utilizado en humanos para disminuir la concentración de amonio en sangre así como en modelos experimentales de hiperamonemia en ratas, probablemente debido a cambios en el pH intestinal [18,27], mientras que los cambios en el sistema inmunitario intestinal están representados por incremento en la secreción de IgA sin signos de inflamación de la mucosa [18].

El GSH por su relación con el ácido ascórbico y como reservorio operativo del NO en forma de S-Nitrosoglutatión, juega un importante rol en los mecanismos antioxidantes involucrados en la regulación de eventos celulares que incluyen expresión genética, síntesis de proteínas y ADN, proliferación celular y apoptosis, sistemas de traducción de señales, producción de citocinas y respuesta del sistema inmunitario [3,26,28,30]. La deficiencia de GSH contribuye al estrés oxidativo el cual juega un papel clave en el envejecimiento y en la patogénesis de numerosas enfermedades que van, desde el kwashiorkor, síndrome convulsivo, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedades hepáticas, fibrosis quística, anemia de células falciformes, sepsis, SIDA, cáncer, infarto del miocardio, enfermedad cerebrovascular, diabetes y sus complicaciones [2,11,22,25,28].

Debido al uso creciente del lactitol en productos alimenticios para grupos específicos, tales como individuos diabéticos y obesos, así como al cada vez mayor número de evidencias que involucran al estrés oxidativo en la génesis de diversas patologías, el propósito del presente estudio fue determinar el efecto del lactitol sobre el balance oxidación/antioxidación, administrado en diferentes dosis a ratas Sprague-Dawley normales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo del presente estudio fueron utilizadas 80 ratas macho Sprague-Dawley, adultas jóvenes, con un peso promedio de 250 ± 20 g, obtenidas del bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, las cuales fueron mantenidas en jaulas de acero inoxidable a 25°C , con acceso *ad libitum* a agua y a alimento especial para ratas (Ratarina®, Purina, Venezuela).

Las ratas fueron divididas en cuatro grupos de 20 animales cada uno, tres experimentales que recibieron lactitol (Suomen Xyrofin Oy, Finlandia), mediante sonda orogástrica en dosis de 0,3 g/Kg/día; 1 g/Kg/día y 5 g/Kg/día durante 12 semanas. El grupo control recibió por sonda orogástrica un volumen equivalente de solución salina fisiológica durante el mismo período de tiempo. Antes de iniciado el tratamiento y después de 12 semanas de tratamiento fueron sometidos a los animales a un ayuno de 12 horas, y luego de anestesiárselas con éter se les tomó muestra de sangre por vía intracardiaca, para la determi-

nación de los indicadores séricos de oxidación y antioxidación representados por malondialdehído (MDA), óxido nítrico (NO), ácido ascórbico, ácido dehidroascórbico y glutatión reducido (GSH). Todos los animales fueron pesados semanalmente.

La determinación de la concentración sérica de MDA se realizó utilizando el método colorimétrico del ácido tiobarbitúrico o TBA modificado (TBARS) [7]; la concentración sérica de óxido nítrico mediante la técnica de diazotización o ensayo de ácido sulfanílico el cual determina NO de forma indirecta a través de la cuantificación de los nitritos inorgánicos [1]; para la determinación de las concentraciones séricas de ácido ascórbico y dehidroascórbico se utilizó el método de Schwarz y Williams [23], y el glutatión reducido en eritrocito mediante el kit colorimétrico del GSH-400 Assay tm (Oxis Internacional Inc, Missouri, EUA), todos ellos como indicadores del balance oxidación y antioxidación.

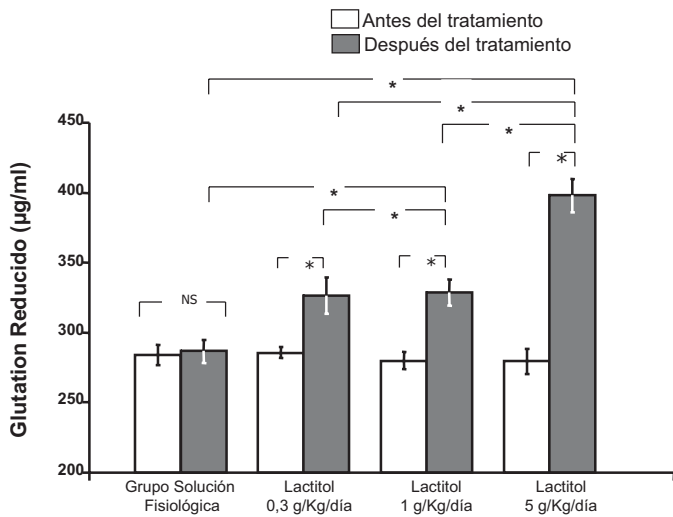
Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de las diversas dosis de lactitol sobre los parámetros estudiados fue utilizado el ANOVA de una vía usando el Software SPSS 10,0 para Windows, mientras que las diferencias entre grupos fueron establecidas a través de la Prueba de Tukey usando el mismo Software. Para determinar diferencias significativas entre los grupos antes y después de recibir el tratamiento con lactitol o con solución fisiológica se aplicó la prueba t de Student pareada. Los resultados fueron expresados como promedio \pm error estándar siendo consideradas significativas las diferencias cuando $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No ha sido reportado en la literatura científica ningún estudio que relacione el lactitol con el balance oxidación/antioxidación, bien sea en animales de experimentación o en humanos.

El hallazgo más sobresaliente del presente estudio fue el incremento de la concentración intracelular de glutatión reducido (GSH) como respuesta a la administración de lactitol durante 12 semanas, efecto que pudo ser observado a dosis de 0,3 g/Kg/día, 1g/Kg/día y que se hace máximo a una dosis de 5g/kg/día, correspondiendo este incremento de la concentración de GSH con una disminución significativa de la concentración sérica de NO. En la FIG. 1 puede ser observado el incremento significativo en la concentración de GSH ($P > 0,05$) en los grupos de ratas tratados con lactitol a dosis de 0,3; 1 y 5 g/Kg/día ($326,59 \pm 13,0$ $\mu\text{g/ml}$; $328,58 \pm 9,2$ $\mu\text{g/ml}$ y $398,29 \pm 11,8$ $\mu\text{g/ml}$ respectivamente) al compararlo con sus correspondientes valores en condiciones basales ($285,8 \pm 4,0$ $\mu\text{g/ml}$; $280,0 \pm 6,2$ $\mu\text{g/ml}$ y $279,5 \pm 9,1$ $\mu\text{g/ml}$). El aumento en la concentración de GSH ($P > 0,05$) fue significativamente superior en el grupo que recibió la dosis elevada de lactitol (5 g/Kg/día) $398,29 \pm 11,8$ $\mu\text{g/ml}$ al compararlo con los grupos que recibieron lactitol en dosis de 1 g/Kg/día y 0,3 g/Kg/día y al compararlo con el grupo control ($328,58 \pm 9,2$ $\mu\text{g/ml}$; $326,59 \pm 13,0$



Los resultados son expresados como promedio \pm EE; n= 18. * (P<0,05); NS= diferencia no significativa

FIGURA 1. EFECTO DEL LACTITOL SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE GLUTATION REDUCIDO (GSH) / EFFECT OF LACTITOL ON REDUCED GLUTATHIONE (GSH).

$\mu\text{g/ml}$ y $286,67 \pm 8,5 \mu\text{g/ml}$, respectivamente). No fueron observados cambios significativos en el grupo control (SSF) al comparar los niveles de GSH antes y después del tratamiento con SSF ($284,2 \pm 7,0 \mu\text{g/ml}$ vs $286,67 \pm 8,5 \mu\text{g/ml}$, respectivamente).

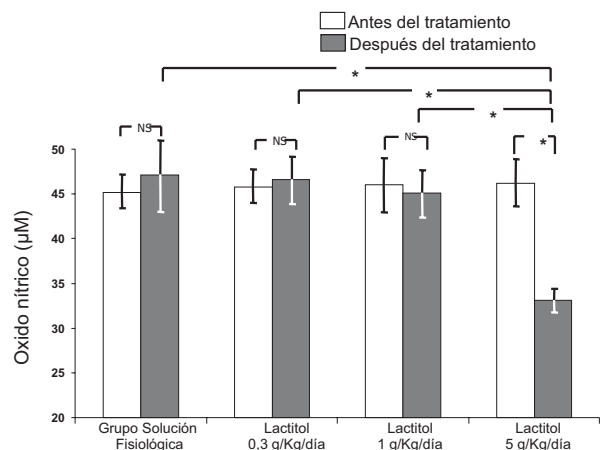
Con relación al NO, su concentración solo fue modificada por la dosis de lactitol de 5g/Kg/día, observándose un descenso significativo al compararla con su correspondiente valor en condiciones basales ($46,2 \pm 2,8 \mu\text{M}$ vs. $33,08 \pm 1,2 \mu\text{M}$). Como lo demuestra la FIG. 2, también se observó un descenso significativo (P<0,05) en los niveles séricos de NO ($33,08 \pm 1,2 \mu\text{M}$) en el grupo que recibió lactitol a dosis elevada de 5 g/Kg/día, al compararlo con los grupos que recibieron lactitol en dosis de 1,0 y de 0,3 g/Kg/día y solución salina ($45,08 \pm 2,5 \mu\text{M}$; $46,64 \pm 2,5 \mu\text{M}$ y $47,12 \pm 3,2 \mu\text{M}$ respectivamente). No se observó diferencia significativa en el grupo control al comparar los niveles de NO, antes y después del tratamiento con solución salina fisiológica ($45,2 \pm 2,0$ vs. $47,12 \pm 3,2 \mu\text{M}$ respectivamente).

El estrés oxidativo y por óxido nítrico, las citocinas inflamatorias, el cáncer, la quimioterapia del cáncer, las radiaciones ionizantes, el choque térmico, el consumo de GSH por depleción o conjugación, la prostaglandina A_2 , los metales pesados, los antioxidantes y la insulina incrementan, como mecanismo compensatorio la transcripción o la actividad de la enzima -glutamyl-cisteína sintetasa (GCS) y en consecuencia de GSH; mientras que la deficiencia de proteínas en la dieta, la dexametasona, la eritropoyetina, el factor de crecimiento tumoral beta y la hiperglicemia inhiben la actividad de la GCS [14,24]. También ha sido reportado el amonio como

inhibidor de los niveles de GSH [12]. Teniendo en cuenta que el lactitol no se absorbe como tal en el tracto digestivo, es probable que el mecanismo implicado en el incremento de GSH en respuesta a las tres dosis de lactitol sea la producción de ácidos grasos de cadena corta por acción de la flora bacteriana sobre el mismo. Como el estudio fue realizado en animales sanos se descarta la participación de variables como citocinas inflamatorias, cáncer, radiaciones, así como estrés oxidativo y por NO.

Aunque ha sido reportada una disminución de GSH por amonio en casos de toxicidad por hiperamonemia [12] es posible inferir entonces que la disminución del amonio por lactitol sería el mecanismo responsable del incremento en el GSH, lo que analizado mas detenidamente carece de sustento, ya que este estudio fue realizado en animales sanos, donde los niveles de amonio circulante son muy bajos. La disminución de la hiperamonemia presente en individuos con encefalopatía hepática ha sido atribuida a la acidificación del medio intestinal, lo que conlleva a inhibición del crecimiento de las bacterias productoras de amonio [4].

Siendo el lactitol un disacárido de origen sintético que no es hidrolizado, ni absorbido a nivel intestinal, se debe entonces pensar que los efectos antes mencionados no son producidos de manera directa por el mismo, sino por los productos de su degradación por parte de bacterias de la flora intestinal, tales como ácido propiónico, ácido butírico, ácido acético y ácido láctico [8]. El patrón de producción, como el sitio de liberación a nivel intestinal de ácidos grasos de cadena corta por fermentación varía de acuerdo al tipo de carbohidrato no digerible administrado en ratas [9,13,16].



Los resultados son expresados como promedio \pm EE; n= 18. * P<0,05; NS= diferencia no significativa

FIGURA 2. EFECTO DEL LACTITOL SOBRE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE ÓXIDO NÍTRICO (NO)/ Effect of Lactitol on serum Nitric Oxide.

La dosis de lactitol de 0,3 g/Kg/día es inferior a la ingesta de unos 24 g/día de lactitol recomendada en humanos, para evitar sus efectos laxantes [17]. Aunque en las ratas, dicho efecto laxante observado con las dosis de 1 g/Kg/día y de manera más intensa con la dosis de 5 g/Kg/día, la diarrea desapareció después de la tercera semana. Los cambios en el peso de los animales que recibieron 5 g/Kg/día de lactitol fueron transitorios y debidos a la diarrea, lo que descarta además la hemoconcentración, como causa del aumento en el GSH (TABLA I).

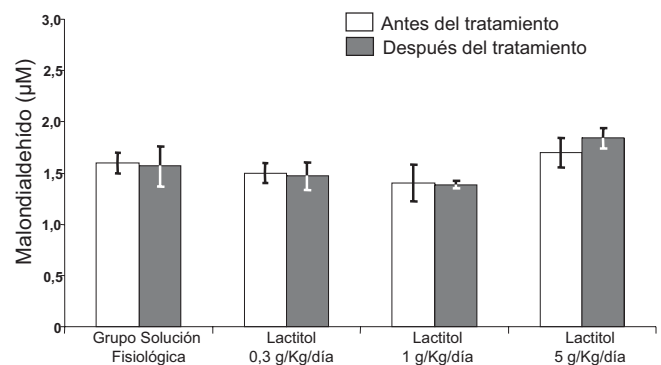
TABLA I
EFFECTO DEL LACTITOL SOBRE EL PESO DE LOS ANIMALES/ EFFECT OF LACTITOL ON RAT'S WEIGHT.

Semana	Peso (g)		Peso (g)					
	Grupo Control		Grupo Lactitol					
		0,3 g/kg/día	1 g/kg/día	5 g/kg/día				
0	250	39	250	34	247	37	256	40
1	252	35	248	40	252	35	252	35
2	258	50	256	60	258	41	252	38
3	260	80	256	49	250	60*	252	50*
4	265	70	263	45	262	72	257	43*
5	271	35	268	44	268	94	266	36*
6	273	50	270	43	270	52	268	37*
7	285	61	282	52	284	89	279	78
8	298	76	297	60	298	51	295	86
9	305	68	306	68	308	73	305	83
10	308	48	310	34	305	64	305	69
11	310	60	312	45	310	70	310	75
12	315	66	317	68	313	67	315	81

Los resultados son expresados como promedio ± EE; n= 18. * P< 0,05 cuando se comparo con el grupo control.

La muerte de algunos animales se debió a accidentes como broncoaspiración durante la administración del lactitol y SSF en las dos primeras semanas de tratamiento. El estrés emocional por la manipulación diaria para el sondeo de los animales, tampoco tuvo influencia en los resultados, pues el grupo que recibió solución salina durante las 12 semanas no experimentó cambio alguno en las variables dependientes estudiadas y en especial del MDA como indicador confiable de la peroxidación lipídica.

No hubo diferencias significativas en las concentraciones séricas de MDA en los grupos que recibieron lactitol en dosis de 0,3 g/Kg/día; 1 g/Kg/día y 5 g/Kg/día y solución fisiológica (1,47 ± 0,15 µM; 1,39 ± 0,04 µM; 1,84 ± 0,1 µM y 1,57 ± 0,18 µM respectivamente) al compararlos con sus respectivos valores basales (1,5 ± 0,1 µM; 1,4 ± 0,2 µM; 1,7 ± 0,15 µM y 1,6 ± 0,1 µM) (FIG. 3).

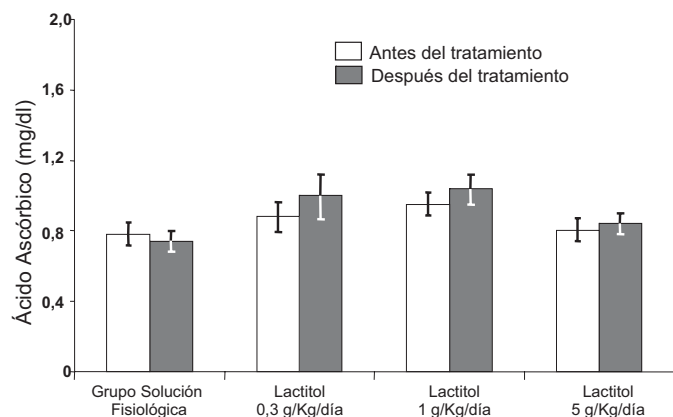


Los resultados son expresados como promedio ± EE; n= 18. No fueron observados diferencias significativa s ni entre las diferentes dosis de lactitol y las diferentes dosis de lactitol con su respectivo valor basal de MDA.

FIGURA 3. EFECTO DEL LACTITOL SOBRE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE MALONDIALDEHÍDO (MDA)./ Effect of Lactitol on serum Malondialdehyde.

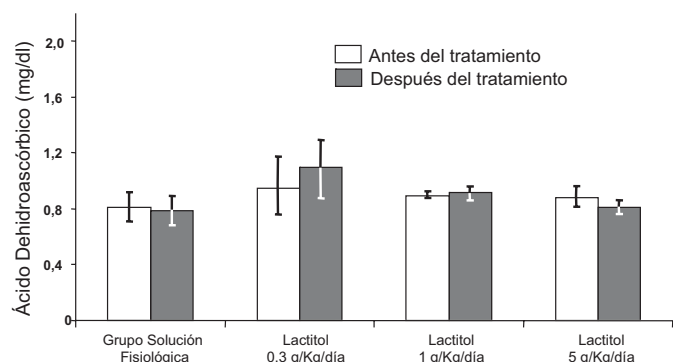
Con relación al ácido ascórbico no hubo diferencias significativas en las concentraciones séricas del mismo en los grupos que recibieron lactitol en dosis de 0,3 g/Kg/día; 1 g/Kg/día y 5 g/Kg/día y solución fisiológica (1,0 ± 0,12 mg/dl; 1,04 ± 0,08 mg/dl; 0,84 ± 0,06 mg/dl y 0,74 ± 0,06 mg/dl respectivamente) al compararlos con sus respectivos valores basales (0,88 ± 0,1 mg/dl; 0,95 ± 0,08 mg/dl; 0,81 ± 0,05 mg/dl y 0,78 ± 0,07 mg/dl) (FIG. 4). Tampoco fueron observados diferencias significativas en las concentraciones séricas de ácido dehidroascórbico en los grupos que recibieron lactitol en dosis de 0,3 g/Kg/día; 1 g/Kg/día y 5 g/Kg/día y solución fisiológica (1,19 ± 0,18 mg/dl; 0,92 ± 0,05 mg/dl; 0,81 ± 0,06 mg/dl y 0,79 ± 0,1 mg/dl respectivamente) al compararlos con sus respectivos valores basales (0,95 ± 0,2 mg/dl; 0,89 ± 0,03 mg/dl; 0,88 ± 0,08 mg/dl y 0,81 ± 0,12 mg/dl) (FIG. 5). El incremento en la concentración de GSH pudiese ser más, producto de inducción enzimática de la GCS que la reducción del GS:SG a expensas del ácido ascórbico, ya que como se observa en las FIGS. 4 y 5, los niveles de ácido ascórbico y dehidroascórbico no sufrieron alteraciones significativas a lo largo del estudio.

Con excepción del uso de lactitol en el tratamiento del coma hepático por sus efectos reductores de la producción de amonio a nivel intestinal, atribuido a la acidificación del pH intestinal e inhibición de la flora productora de amonio, no existe otra indicación terapéutica del mismo [27]. Diversos estudios atribuyen a la absorción de estos ácidos grasos de cadena corta numerosos efectos sobre el sistema inmunológico, como lo demuestran estudios previos realizados por Rodríguez-Cabezas y col. [19], donde se observó que la administración de una dieta con suplementos de fibras generadora de ácidos grasos de cadena corta, disminuye el óxido nítrico, el -TNF y la



Los resultados son expresados como promedio \pm EE; n= 18. No fueron observados diferencias significativas ni entre las diferentes dosis de lactitol y las diferentes dosis de lactitol con su respectivo valor basal de ácido ascórbico.

FIGURA 4. EFECTO DEL LACTITOL SOBRE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DEL ÁCIDO ASCÓRBICO/ EFFECT OF LACTITOL ON SERUM ASCORBIC ACID.



Los resultados son expresados como promedio \pm EE; n= 18. No fueron observados diferencias significativas ni entre las diferentes dosis de lactitol y las diferentes dosis de lactitol con su respectivo valor basal de ácido dehidroascórbico.

FIGURA 5. EFECTO DEL LACTITOL SOBRE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DEL ÁCIDO DEHIDROASCÓRBICO/ EFFECT OF LACTITOL ON SERUM DEHYDROASCORBIC ACID.

respuesta inflamatoria en ratones tratados con ácido trinitrobenzenosulfónico [10,19].

El incremento del GSH hace atractivo al lactitol como un edulcorante de bajo rendimiento energético, cuya acción sobre el balance oxidación/antioxidación pudiera tener un efecto potencial de protección contra patologías como el cáncer.

CONCLUSIONES

Después de 12 semanas de tratamiento, el lactitol produce en ratas Sprague-Dawley los siguientes efectos sistémicos sobre algunos indicadores del balance oxidación-antioxidación:

Incremento del GSH intracelular en respuesta a las tres dosis de lactitol utilizadas.

Disminución de la concentración de NO sérico a dosis elevada de lactitol.

Los niveles de ácidos dehidroascórbico y ascórbico no sufrieron cambios a lo largo del estudio, lo que indica que el incremento en los niveles de GSH no fue a expensas de la oxidación de ácido ascórbico a dehidroascórbico.

No indujo cambios en la peroxidación lipídica, ya que ninguna de las dosis administradas modificó las concentraciones séricas de MDA.

La disminución de la concentración sérica de nitritos con incremento simultáneo de GSH, puede ser atribuido a la formación de S-nitrosoglutatión.

AGRADECIMIENTO

Los autores quieren expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el apoyo financiero.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ARCHER, S. Measurement of nitric oxide in biological models. **FASEB J.** 7:349–360. 1993.
- [2] ASHFAQ, S.; ABRAMSON, J.L.; JONES, D.P.; RHODES, S.D.; WEINTRAUB, W.S.; HOOPER, W.C.; VACCARINO, V.; HARRISON, D.G.; QUYYUMI, A.A. The relationship between plasma levels of oxidized and reduced thiols and early atherosclerosis in healthy adults. **J. Am. Coll. Cardiol.** 47:1005–1011. 2006.
- [3] AW, T.Y. Cellular redox: a modulator of intestinal epithelial cell proliferation. **News Physiol. Sci.** 18:201–204. 2003.
- [4] BALLONGUE, J.; SCHUMANN, C.; QUIGNON, P. Effects of lactulose and lactitol on colonic microflora and enzymatic activity. **Scand. J. Gastroenterol. Suppl.** 222: 41–44. 1997.
- [5] BEAUGERIE, L.; FLOURIE, B.; MARTEAU, P.; PELLIER, P.; FRANCHISSEUR, C.; RAMBAUD, J.C. Digestion and absorption in the human intestine of three sugar alcohols. **Gastroenterol.** 99:717–723. 1990.
- [6] CAMPBELL, J.M.; FAHEY, G.C.Jr; WOLF, B.W. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel

- mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. **J. Nutr.** 127:130–136. 1997.
- [7] DRAPER, H.H.; SQUIRES, E.J.; MAHMOODI, H.; WU, J.; AGARWAL, S.; HADLEY, M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. **Free Radic. Biol. Med.** 15:353–363. 1993.
- [8] GERBER, T.; SCHOMERUS, H. Hepatic encephalopathy in liver cirrhosis: pathogenesis, diagnosis and management. **Drugs** 60:1353–1370. 2000.
- [9] HENNINGSSON, A.M.; BJÖRCK, I.M.; NYMAN, M.G. Combinations of Indigestible carbohydrates affect short-chain fatty acid formation in the hindgut of rats. **J. Nutr.** 132:3098–3104. 2002.
- [10] KLAMPFER, L.; HUANG, J.; SASAZUKI, T.; SHIRASAWA, S.; AUGENLICHT, L. Inhibition of interferon signaling by the short chain fatty acid butyrate. **Mol. Cancer Res.** 1:855–862. 2003.
- [11] KOLLS, J.K. Oxidative stress in sepsis: a redox redux. **J. Clin. Invest.** 116:860 – 863. 2006.
- [12] KOSENKO, E.; KAMINSKI, Y.; LOPATA, O.; MURAVYOV, N.; FELIPO, V. Blocking NMDA receptors prevents the oxidative stress induced by acute ammonia intoxication. **Free Radic. Biol. Med.** 26:1369–1374. 1999.
- [13] LE BLAY, G.; MICHEL, C.; BLOTTIERE, H.M.; CHERBUT, C. Prolonged intake of fructo-oligosaccharides induces a short-term elevation of lactic acid-producing bacteria and a persistent increase in cecal butyrate in rats. **J. Nutr.** 129:2231–2235. 1999.
- [14] LU, S.C. regulation of glutathione synthesis. **Curr. Top. Cell. Regul.** 36: 95–116. 2000.
- [15] NATAH, S.S.; HUSSSIEN, K.R.; TOUMINEN, J.A.; KOIVISTO, V.A. Metabolic response to lactitol and xylitol in healthy men. **Am. J. Clin. Nutr.** 65:947–950. 1997.
- [16] NILSSON, U.; NYMAN, M. Short-chain fatty acid formation in the hindgut of rats fed oligosaccharides varying in monomeric composition, degree of polymerisation and solubility. **Br. J. Nutr.** 94:705–713. 2005.
- [17] OKU, T.; NAKAMURA, S.; ICHINOSE, M. Maximum permissible dosage of lactose and lactitol for transitory diarrhea, and utilizable capacity for lactose in Japanese female adults. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.** 51:51–57. 2005.
- [18] PEURANEN, S.; TIIHONEN, K.; APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A.; SAARINEN, M.; RAUTONEN, N.; Combination of polydextrose and lactitol affects microbial ecosystem and immune responses in rat gastrointestinal tract. **Br. J. Nutr.** 91:905–914. 2004.
- [19] RODRÍGUEZ-CABEZAS, M.E.; GÁLVEZ, J.; LORENTE, M.D.; CONCHA, A.; CAMUESCO, D.; AZZOUZ, S.; OSUNA, A.; REDONDO, L.; ZARZUELO, A. Dietary fiber down-regulates colonic tumor necrosis factor and nitric oxide production in trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitic rats. **J. Nutr.** 132:3263–3271. 2002.
- [20] ROEDIGER, W.E.W. The place of short-chain fatty acids in colonocyte metabolism in health and ulcerative colitis: the impaired colonocyte barrier. In: Cummings, J.H.; Rombeau, J.L.; Sakata, T. (Eds). **Physiological and Clinical Aspects of Short-Chain Fatty Acids.** Cambridge University, Press Cambridge, 337–351 pp. 1995.
- [21] ROEDIGER, W.E.W. The colonic epithelium in ulcerative colitis: an energy-deficiency disease? **Lancet.** II:712–715. 1980.
- [22] STOCKER, R.; KEANEY, J.F. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. **Physiol. Rev.** 84:1381–1478. 2004.
- [23] STROHECKER, R.; HENNING, H.M. Vitamina C (ácido L [+]- ascórbico). **Análisis de Vitaminas: Métodos comprobatorios.** 1ra Ed. Ed. Paz Montalvo, Madrid, 276–308 pp. 1966.
- [24] TOWNSEND, D.M.; TEW, K.D.; TAPIERO, H. The importance of glutathione in human disease. **Biomed. Pharmacother.** 57: 145–155. 2003.
- [25] VINCENT, A.M.; RUSSELL, J.W.; LOW, P.; FELDMAN, E.L. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. **Endocr. Rev.** 25:612–628. 2004.
- [26] WANG, W.; BALLATORI, N. Endogenous glutathione conjugates: occurrence and biological functions. **Pharmacol. Rev.** 50:335–356. 1998.
- [27] WATANABE, M.; OZAKI, T.; HIRATA, Y.; YAMAMOTO, O.; NIIDA, H.; UEDA, F.; YOSHIKUNI, Y.; KIMURA, K. Mechanism for lowering blood ammonia levels by lactitol. **Jpn. J. Pharmacol.** 67:369–374. 1995.
- [28] WU, G.; FANG, Y.Z.; YANG, S.; LUPTON, J.R.; TURNER, N.D. Glutathione metabolism and its implications for health. **J. Nutr.** 134:489–92. 2004.
- [29] WÜRSCH, P.; KOELLREUTTER, B.; GÉTAZAND, F.; ARNAUD, M.J. Metabolism of maltitol by conventional rats and mice and germfree-mice, and comparative digestibility between maltitol and sorbitol in germfree-mice. **Br. Med. J. Nutr.** 63:7–15. 1990.
- [30] YANG, P.; EBBERT, J.O.; SUN, Z.; WEINSHILBOUN, R.M. Role of the glutathione metabolic pathway in lung cancer treatment and prognosis: a review. **J. Clin. Oncol.** 24:1761–1769. 2006.