

Trabajos

Efecto del porcentaje de sacarosa dietaria sobre la adiposidad y la dislipemia en un modelo experimental de resistencia insulínica

RECIBIDO: 22/6/06

ACEPTADO: 31/8/06

Fortino, M.A. • Lombardo Y.B. • Chicco A.G.

Departamento de Química Biológica. Cátedra de Química Biológica. Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria. Paraje "El Pozo". S3000ZAA Santa Fe. Argentina. Tel.: 0342-4575211. e-mail: afortino@fbc.unl.edu.ar

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo fue analizar la evolución de los lípidos plasmáticos y tisulares, el peso corporal y la ingesta calórica en el modelo de ratas dislipémicas por alimentación crónica (30 semanas) con dieta rica en sacarosa, cuando se reduce el porcentaje del disacárido de un 63% (p/p) a un 20% durante 12 semanas más. La evaluación secuencial (30, 34, 38 y 42 semanas) del cambio de dieta mostró en los animales con DRS-20% una disminución tanto en el peso corporal como en el peso del tejido adiposo que se acentuó al final del período experimental. A la semana 42 la normalización de los triglicéridos plasmáticos se asoció a un significativo descenso del pool de triglicéridos hepáticos sin modificación en el elevado contenido de triglicéridos musculares. En este mismo período los niveles de glucosa y ácidos grasos libres disminuyeron significativamente sin modificación de la insulinemia. Este trabajo demuestra que con un menor porcentaje de sacarosa en la dieta es posible lograr mejoras significativas en

las alteraciones presentes en un modelo de dislipemia y resistencia insulínica.

PALABRAS CLAVE: dislipemia, peso corporal, sacarosa, dieta.

SUMMARY: *Effect of sucrose percentage in the diet on adiposity and dyslipidemia in an experimental animal model of insulin resistance.*

Fortino, M.A.; Lombardo Y.B.; Chicco A.G.

The aim of this study was to analyze the evolution of body weight, caloric intake and plasma and tissue triglyceride in a dyslipemic animal model induced by chronic administration of a sucrose-rich diet (30 weeks) when the percentage of sucrose was reduced from 63% to 20% (w/w) during 12 weeks. The sequential evolution (30, 34, 38 and 42 weeks) of the diet change showed a decrease in both body weight and total adipose weight in the SRD-20% that was more important at the end of the experimental period. At 42 weeks there was a normalization of plasma triglycerides

associated with a significant decrease of the liver triglycerides but without changes in the increased levels of muscle triglycerides. At the same time plasma glucose and free fatty acids were significantly decreased without any changes in plasma insulin levels. In conclusion, it seems possible to achieve an improvement of the dyslipidemia in this experimental animal model by reducing the amount of the single sugar in the diet.

KEY WORDS: dyslipidemia, body weight, sucrose, diet.

Introducción

En la actualidad se observa un crecimiento alarmante de patologías involucradas en el Síndrome Plurimetabólico, entre ellas obesidad, insulino-resistencia, dislipidemia y diabetes tipo 2 (1). Los macronutrientes de la dieta (ej: grasas e hidratos de carbono) juegan un rol muy importante en el desarrollo de la dislipemia y la resistencia insulínica. Más aún, en los últimos años un creciente número de estudios a nivel humano sugieren una relación entre estas patologías y el mayor consumo de azúcares refinados y bebidas gaseosas con alto contenido de fructosa, en particular en niños y adolescentes (2-7).

A nivel experimental, especialmente en roedores, se ha demostrado que ingestas ricas en hidratos de carbono simples (sacarosa y/o fructosa) conducen a insulino-resistencia y dislipemia (8-10). Más aún, la magnitud de las alteraciones encontradas varía con la cantidad y tipo de carbohidratos de la dieta y con la duración de la ingesta (11-15). Al respecto nuestro grupo (16) ha demostrado que ratas alimentadas crónicamente (30 semanas) con una dieta rica en sacarosa (DRS) desarrollan dislipemia

(niveles elevados de triglicéridos (TG) y ácidos grasos libres (AGL) plasmáticos), resistencia insulínica periférica global, moderada hiperglucemia y normoinsulinemia. Estas alteraciones se acompañan de moderado incremento del peso corporal y de la ingesta calórica.

Si bien existen trabajos a nivel experimental que estudian la posibilidad de prevenir la aparición de las alteraciones inducidas por dietas ricas en sacarosa y/o fructosa (17,18), son muy escasos los estudios que brindan información sobre la posibilidad de revertir y/o mejorar las anomalías antes mencionadas una vez que están bien establecidas. Dentro de estos se encuentran los que implican intervenciones farmacológicas (19) y los que implican manipulaciones nutricionales. En este último grupo, Cohen y col. (20) hace ya 4 décadas observaron que la intolerancia a la glucosa inducida en ratas alimentadas durante tres meses con DRS (67% p/p) podía revertirse cuando la fuente de hidrato de carbono de la dieta (sacarosa) era reemplazada por almidón por un período de al menos un mes. Y que, sin embargo, cuando estos animales volvían a alimentarse con la DRS, la intolerancia a la glucosa aparecía nue-

vamente en sólo una semana. En trabajos más recientes se ha demostrado que es posible normalizar la dislipemia, la homeostasis de la glucosa y la resistencia insulínica cuando a estos animales se les suministra aceite de hígado de bacalao (en lugar de aceite de maíz) como fuente de grasa dietaria durante las últimas 8 semanas de ingesta (16).

Dentro de este contexto resulta interesante estudiar la evolución de la dislipemia y el contenido de lípidos tisulares así como del peso corporal y la ingesta calórica en el modelo nutricional de ratas alimentadas crónicamente con DRS, cuando el cambio nutricional que se realiza es la reducción del porcentaje de sacarosa de un 63% (p/p) a un 20% (p/p) durante las últimas semanas de ingesta. La cantidad de sacarosa administrada contiene –de acuerdo a las estadísticas de las últimas décadas– una proporción de fructosa semejante al consumo promedio de la población en general.

Materiales y métodos

Animales y dietas

Se utilizaron ratas machos de la cepa Wistar provenientes de la Comisión Nacional de Energía Atómica (CONEA), Buenos Aires Argentina con un peso inicial de 180-200 g. Durante todo el período experimental los animales se mantuvieron en bioterio estandarizado y bajo condiciones controladas de temperatura ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), humedad y ciclo luz/ oscuridad (7:00 – 19:00 hs). Luego de una semana de aclimatación las ratas fueron divididas aleatoriamente en dos grupos: el grupo experimental recibió una dieta semisintética rica en sacarosa 63% p/p (DRS-63%), mientras que el grupo control recibió la misma dieta en la cual la sacarosa se reemplazó isocalóricamente por almidón (DC). Alcanzadas las 30 semanas de dieta el grupo DRS se subdividió en dos subgrupos: uno continuó con la DRS-63% hasta el final de la

experiencia (42 semanas), mientras que en el otro subgrupo se sustituyó la sacarosa 63% por sacarosa 20% + almidón 43% (DRS-20%). Los animales del grupo control continuaron con la DC hasta alcanzar las 42 semanas de ingesta. La Tabla 1 muestra la composición de las dietas cuyos componentes se basan en las recomendaciones del Comité ad hoc del "American Institute of Nutrition" (21). Las mismas fueron preparadas semanalmente y mantenidas a 4°C hasta el momento del consumo. Todas proveen aproximadamente 16.05 KJ/g de comida seca y se administraron ad libitum. Los animales de cada lote y sub lote fueron sacrificados secuencialmente a partir de la semana 30 de ingesta como se detalla en la Figura 1.

Durante todo el período experimental se determinó la ganancia de peso y la ingesta calórica dos veces por semana. La energía ingerida por cada gramo de peso corporal ganado denominada "eficiencia" (KJ/g), fue determinada como un indicador digestivo y metabólico de la facilidad con que la energía consumida se adicionó al peso corporal (22). Finalizado el período experimental de ingesta se retiró la comida de las jaulas respectivas a las 7:00 hs y las experiencias se llevaron a cabo entre las 8:00 y las 10:00 hs. Los animales fueron anestesiados intraperitonealmente con pentobarbital sódico (60 mg/ kg de peso corporal). Las muestras de sangre fueron extraídas de la vena cava inferior e inmediatamente centrifugadas a 4°C . El suero obtenido se utilizó inmediatamente o se conservó a -20°C hasta su procesamiento (no más de 1 semana). Muestras de tejidos (hígado, tejido adiposo epididimal y retroperitoneal, músculo esquelético y cardíaco) fueron obtenidas inmediatamente después de la extracción de sangre, congelados utilizando una pinza de Wolleberger previamente enfriada la temperatura de nieve carbónica y conservados a la temperatura de N_2 líquido hasta su procesamiento.

Métodos analíticos

Los parámetros plasmáticos evaluados por métodos espectrofotométricos fueron: triglicéridos (23), glucosa (24) y ácidos grasos libres (25). La insulina fue dosada mediante ensayo inmunorreactivo (26) utilizando un estándar de insulina de rata (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca). En homoge-
neizados de tejidos hepático y muscular esquelético se cuantificó el contenido de triglicéridos (23).

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como media \pm SEM. El estudio estadístico entre grupos se realizó por análisis de varianza de un factor y posterior test de Newman Keuls para examinar las diferencias entre pares de medias (27). Valores de $p < 0.05$ fueron consideradas estadísticamente significativos.

Resultados

Incremento de peso, ingesta calórica y eficiencia

Como se demostrara previamente (19, 28) la ganancia de peso y la ingesta calórica de las ratas DRS-63% fue significativamente mayor ($p < 0.05$) a la observada en los respectivos controles etarios alimentados con DC (Tabla 2). Al prolongarse la DRS-63% por 12 semanas se mantienen las mismas diferencias significativas de estos parámetros. Cuando la sacarosa se sustituye parcialmente por almidón (DRS-20%) desde la semana 30 a la 42, la ganancia de peso es ligeramente menor (10% en DRS-20% vs 16% en DRS-63%) y no muestra diferencia significativa con el grupo DC. Por su parte, la ingesta calórica, no mostró diferencia significativa con el grupo control en ninguno de los tiempos evaluados (semanas 34, 38 y 42).

La energía ingerida por cada gramo de peso corporal ganado (eficiencia) mostró un valor menor en el grupo DC comparado con la DRS-63% (538,9 KJ/g vs 387,5 KJ/g $p < 0.05$). La DRS-20% presentó un valor intermedio (473,8 KJ/g, $p < 0.05$) comparado con los otros dos grupos.

Peso del hígado y del tejido adiposo epididimal y retroperitoneal

No se observaron diferencias significativas en el peso del hígado expresado tanto en forma absoluta como relativa (g/100 g de peso corporal) en ninguno de los grupos experimentales, ni en los tiempos de ingesta, comparados con el lote control. El peso del tejido adiposo (epididimal y retroperitoneal) se incrementó significativamente en los animales alimentados con DRS-63% comparado con el grupo control ($p < 0.05$) en cada uno de los tiempos analizados. Respecto a la dieta DRS-20%, el peso del tejido adiposo (epididimal y retroperitoneal) disminuyó significativamente ($p < 0.05$) a partir de las 8 semanas del cambio dietario cuando se comparó con el grupo alimentado con DRS-63%. Sin embargo los valores obtenidos son aún significativamente mayores ($p < 0.05$) a los observados en el grupo control (Figuras 2A y 2B).

Triglicéridos plasmáticos y tisulares

La Figura 3A muestra los niveles de triglicéridos plasmáticos. Los animales alimentados con DRS-63% muestran niveles de triglicéridos plasmáticos elevados ($p < 0.05$) respecto a los animales alimentados con DC a las 30 semanas. La hipertrigliceridemia permanece estable cuando la ingesta continúa hasta la semana 42. Cuando la sacarosa es sustituida parcialmente por almidón (DRS-20%) los niveles de triglicéridos plasmáticos descienden secuencialmente, siendo significativamente diferentes ($p < 0.05$) y

alcanzando a la semana 42 valores semejantes a los observados en el lote DC.

A la semana 30 de ingesta el contenido de triglicéridos hepáticos se incrementó significativamente en los animales alimentados con DRS-63% con respecto a los animales alimentados con DC ($p < 0.05$) permaneciendo elevados hasta la semana 42. Cuando se sustituyó parcialmente el contenido de sacarosa dietaria (DRS-20%) el contenido de triglicéridos hepáticos descendió a partir de la semana 38 de ingesta, manteniéndose en estos niveles hasta la semana 42. Sin embargo, al finalizar la experiencia el contenido de triglicéridos hepáticos es aún significativamente mayor que el observado en los animales de igual sexo y edad alimentados con DC (Figura 3B).

En la Figura 3C observamos que el incremento ($p < 0.05$) en el contenido de triglicéridos musculares tanto en el músculo gastrocnemio como cardíaco inducido por la ingesta crónica con DRS-63% no se modifica con la sustitución de sacarosa de la dieta (DRS-20%) durante el período analizado.

Determinaciones plasmáticas de ácidos grasos libres, glucosa e insulina

De acuerdo a los resultados antes expuestos se evaluaron en la semana 42 de la ingesta los niveles de ácidos grasos libres, glucosa e insulina. En la Tabla 3 observamos que los animales alimentados con DRS-63% mostraron niveles de ácidos grasos libres y glucosa significativamente mayores cuando se compararon con los de animales alimentados con DC. Cuando se sustituye parcialmente el porcentaje de sacarosa de la dieta (DRS-20%) se observa un descenso significativo ($p < 0.05$) de ambos parámetros que no llegan a los valores observados en el lote control. Los cambios en estos parámetros no parecen relacionarse con diferencias en los niveles basales de

insulina plasmática, ya que los tres grupos de animales presentan insulinemia semejante al final del período experimental (Tabla 3).

Discusión

En el presente trabajo demostramos que la dislipemia y moderada obesidad inducida en animales de experimentación por ingesta crónica (42 semanas) de una dieta rica en sacarosa (DRS-63%) puede mejorarse sustituyendo parcialmente el contenido de hidrato de carbono simple por almidón (DRS-20%) durante las últimas 12 semanas de ingesta. Esta sustitución induce: 1. menor incremento del peso corporal y de la adiposidad visceral; 2. normalización de los niveles de triglicéridos plasmáticos con disminución del contenido de TG hepáticos y sin modificaciones en el incremento de los triglicéridos musculares; 3. descenso significativo de los niveles de ácidos grasos libres y de glucosa plasmática sin modificación de la insulinemia.

El peso del tejido adiposo epididimal se relaciona en forma lineal con el peso corporal, mientras que el tejido adiposo retroperitoneal lo hace en forma exponencial (29), resultando así indicadores confiables del incremento del peso corporal por acumulación de grasa abdominal. El menor incremento de peso, y por ende de grasa abdominal, observado en los animales alimentados con DRS-20% cuando se compara con el grupo alimentado con DRS-63% podría ser atribuido a la diferencia en la ingesta calórica entre los grupos dietarios. Sin embargo no puede descartarse un efecto de la dieta ya que muestra una mayor eficiencia en transformar la energía ingerida en acumulación grasa cuando contiene elevada cantidad de sacarosa.

El metabolismo hepático de la fructosa es considerado un fuerte inductor de la lipogénesis en dicho tejido (30-32). Además el contenido de triglicéridos plasmáticos es el resultado de un equilibrio entre la secreción hepática

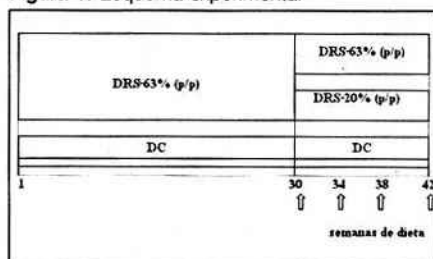
de VLDL-TG y su remoción por los diferentes tejidos periféricos. Al respecto, Lombardo y col. (33), han demostrado en ratas alimentadas crónicamente con DRS-63% que la hipertrigliceridemia es el resultado de un incremento en el contenido de triglicéridos hepáticos, una mayor secreción de VLDL-TG y una disminución en la velocidad de remoción de los TG plasmáticos. La normalización de la hipertrigliceridemia en presencia de un contenido de triglicéridos hepáticos aún elevado en los animales con DRS-20% nos sugiere que los mecanismos inducidos por la ingesta de fructosa de la dieta tienden a mejorarse posiblemente por la menor cantidad de ese monosacárido presente en la dieta. Por otra parte, la significativa reducción (aproximadamente a la mitad) del nivel de AGL plasmáticos implica una menor disponibilidad de los mismos para la esterificación y síntesis hepática de triglicéridos. Cohen y col. (34) demostraron en ratas que el cambio en la cantidad de fructosa presente en la dieta por almidón disminuye las actividades de enzimas lipogénicas inducidas por sacarosa/fructosa y la captación hepática de ácidos grasos libres plasmáticos por reducción de su disponibilidad a partir del tejido adiposo. Por otra parte, trabajos de Lombardo y col. (16,19,28) han demostrado que aún en presencia de altas concentraciones de sacarosa en la dieta, la administración de fármacos como troglitazona o la sustitución/sustitución parcial del tipo de grasa dietaria (aceite de maíz por aceite de hígado de bacalao –rico en n-3–) logra normalizar la dislipemia (triglicéridos y ácidos grasos libres plasmáticos) que se acompaña con un menor contenido de triglicéridos hepáticos.

En las ratas alimentadas con la DRS-20%, aún en presencia de triglicéridos plasmáticos normales, los niveles de ácidos grasos libres continúan siendo elevados constituyendo un apreciable sustrato lipídico para los tejidos periféricos, en particular aquellos donde es utilizado en forma preferencial. Esto último podría explicar la ausencia de cambios en el contenido de triglicéridos musculares en las ratas alimentadas con DRS-20%.

Altos niveles de ácidos grasos libres plasmáticos así como su metabolismo en los tejidos periféricos están involucrados en la sensibilidad insulínica (35-37). En este contexto los resultados del presente estudio demuestran que ante una disminución significativa de los lípidos plasmáticos se observan cambios favorables en los niveles de glucemia.

De los datos obtenidos cabría preguntarse si el reemplazo parcial de sacarosa se prolongara en el tiempo, podría llegarse a una reversión de los parámetros bioquímico-metabólicos inducidos por una dieta rica en este carbohidrato. Si bien es difícil extrapolar los resultados de esta y otras experiencias realizadas en animales a los humanos, estos hallazgos avalan los esfuerzos que se están realizando en el sentido de disminuir el consumo de fructosa en la población en general y los niños y adolescentes en particular. Mayor cantidad de trabajos utilizando manipulaciones nutricionales son necesarios para comprender los mecanismos involucrados y poder realizar aportes que contribuyan a la prevención y/o mejora de las patologías asociadas al Síndrome Metabólico (tales como obesidad, diabetes, dislipemia etc.) que están en continuo crecimiento.

Figura 1: Esquema experimental



DC: dieta control; DRS-63%: dieta rica en sacarosa 63% p/p; DRS-20%: dieta rica en sacarosa 20% p/p.

Las flechas indican las semanas de dieta en las cuales se efectuaron los sacrificios.

Tabla 1: Composición de las dietas experimentales¹.

Componentes	DC		Dietas DRS-63%		DRS-20%	
	% en peso	% en KJ	% en peso	% en KJ	% en peso	% en KJ
Almidón	63	65.8	-	-	43	44.9
Sacarosa	-	-	63	65.8	20	20.9
Caseína	17	16.4	17	16.4	17	16.4
Aceite maíz	7	17.8	7	17.8	7	17.8
Vitaminas ²	1		1		1	
Fibra	8		8		8	
Sales ³	3.5		3.5		3.5	
Colina ⁴	0.2		0.2		0.2	
Metionina	0.3		0.3		0.3	

1. La composición de las dietas está basada en las recomendaciones del Comité ad hoc del "American Institute of Nutrition". DC: dieta control; DRS-63%: dieta rica en sacarosa 63% p/p; DRS-20%: dieta rica en sacarosa 20% p/p

2. Mezcla de vitaminas AIN-93M-VX (g/kg de dieta): Vitamina A (500.000 UI/g) 0,8; vitamina D₃ (400.000 UI/g) 2,75; vitamina E (500 UI/g) 15,0; vitamina K, 0,075; biotina, 0,020; vitamina B12, 2500; ácido fólico 0,200; niacina 3,0; pantotenato de calcio 1,6; piridoxina HCl 0,7; riovitamina 0,6; tiamina HCl 0,6.

3. Mezcla de sales AIN-93M-MX (g/kg de dieta): carbonato de calcio, 357,0; fosfato monobásico de potasio, 250; cloruro de sodio, 74,0; sulfato de potasio, 46,6; citrato de potasio monohidratado, 28,0; óxido de magnesio, 24,0; citrato férrico, 6,06; carbonato de zinc, 1,65; carbonato de manganeso, 0,63; carbonato cúprico, 0,30; yodato de potasio, 0,01; selenato de sodio, 0,01025; molibdato de amonio, 0,00795; cromato de potasio, 0,275.

4. Bitartrato

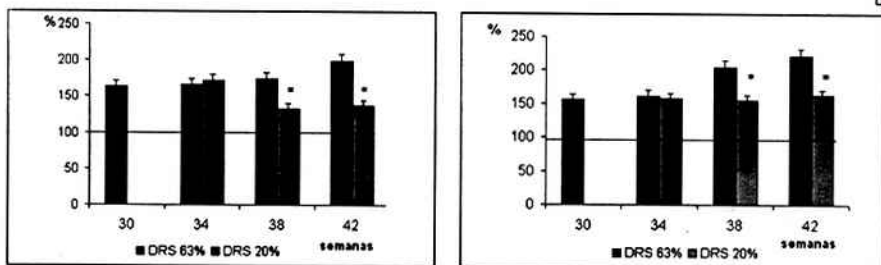
Tabla 2: Peso corporal, ganancia de peso e ingesta calórica en lotes alimentados con diferentes dietas experimentales.

Dieta	Peso corporal (g) inicial	Peso corporal (g) sem. 30	Ingesta calórica (KJ/día) sem. 1-30	Peso corporal (g) sem. 42	Ingesta calórica (KJ/día) sem. 30-42
DC	190.2 ± 9.9 ^a	409.1 ± 18.0 ^a	254.1 ± 11.9 ^a	455.5 ± 1.8 ^a	243.2 ± 11.3 ^a
DRS-63%	194.0 ± 3.5 ^a	462.5 ± 10.2 ^b	320.2 ± 12.7 ^b	529.8 ± 14.1 ^b	328.4 ± 13.6 ^b
DRS-20%				496.9 ± 6.8 ^c	242.8 ± 7.8 ^a

Los valores se expresan como promedio ± SEM (n=6). Los valores en cada columna con letras supraescritas diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$) cuando cada variable es comparada con el test de Newman Keuls. DC: dieta control; DRS-63%: dieta rica en sacarosa 63% p/p; DRS-20%: dieta rica en sacarosa 20% p/p.

Figura 2: Peso del tejido adiposo epididimal y retroperitoneal de los animales alimentados con las diferentes dietas. Tejido adiposo epididimal (2A), Tejido adiposo retroperitoneal (2B).

B



Los valores promedio ± SEM (n=6) se expresan en porcentaje tomando como 100% el peso de los tejidos adiposos respectivos en los animales alimentados con dieta control a cada uno de los tiempos. DC: dieta control; DRS-63%: dieta rica en sacarosa 63% p/p; DRS-20%: dieta rica en sacarosa 20% p/p.

* $p < 0.05$ DRS-20 % vs DRS-63%

Figura 3: Contenido de triglicéridos en plasma, hígado y músculo en ratas alimentadas con las dietas experimentales.

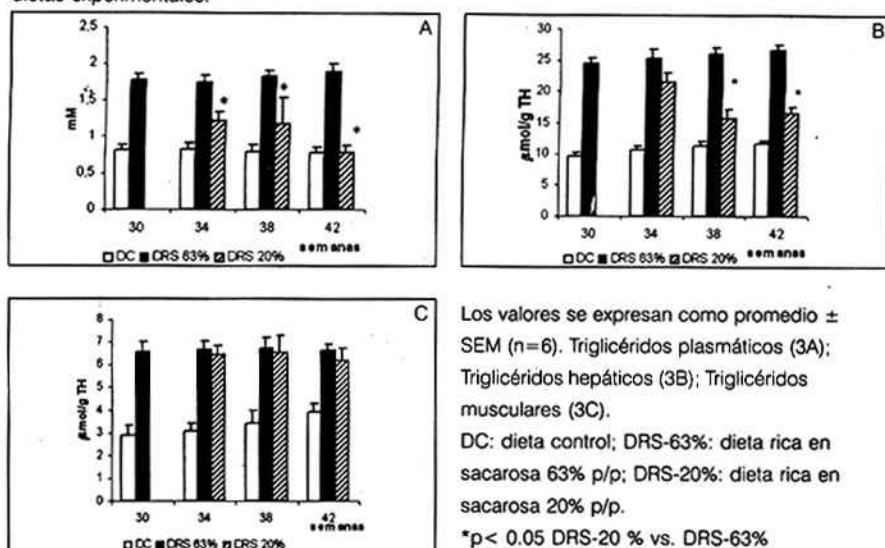


Tabla 3: Ácidos Grasos Libres (AGL), Glucosa e Insulina en plasma a la semana 42 de dieta.

Dietas	AGL (mM)	GLUCOSA (mM)	INSULINA (μ U/ml)
DC	0.28 \pm 0.02 ^a	6.43 \pm 0.23 ^a	50.7 \pm 5.4 ^a
DRS-63%	0.81 \pm 0.05 ^b	8.20 \pm 0.22 ^b	49.2 \pm 5.1 ^a
DRS-20%	0.45 \pm 0.05 ^c	7.10 \pm 0.23 ^c	54.5 \pm 3.6 ^a

Los valores se expresan como promedio \pm SEM (n=10). Los valores en cada columna con letras supraescritas diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$) cuando cada variable es comparada con el test de Newman Keuls.

DC: dieta control; DRS-63%: dieta rica en sacarosa 63% p/p; DRS-20%: dieta rica en sacarosa 20% p/p.

Bibliografía

1. Síndrome Plurimetabólico. Actas del Simposio Internacional (2001): Fundación Alberto J. Roemmers. "La epidemiología de la diabetes y el Síndrome Plurimetabólico". Editor Dr M.L. Martí (Buenos Aires, Argentina), 42-61.
2. Basciano H.; Federico L. and Adeli K. (2005): Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab*, **2**: 5-16.
3. Feskens E.J.; Virtanen S.; Rasanen L.; Tuomilehto J.; Stengard J.; Pekkanen J.; Nissinen A.; Kromhout D. (1995): Dietary factors determining diabetes and impaired glucose tolerance. A 20-year follow-up of the Finnish and Dutch cohorts of the Seven Countries Study. *Diabetes Care* **18**: 1104-1112.
4. Johnson R.; Frary C. (2001): Choose Beverages and foods to moderate your intake of sugars: The 2000 dietary guidelines for Americans - What's all the fuss about? *J Nutr*, **131**: 2766S-2771S.
5. Daly M. (2003): Sugars, insulin sensitivity, and the postprandial state. *Am J Clin Nutr* **78**: 865S-872S.
6. Elliot S.; Keim N.; Stern J.; Teff K. and Havel P. (2002): Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am. J. of Clin. Nutr.* **76**: 911-922
7. Hallfrish J. (1990): Metabolic effects of dietary fructose. *FASEB*, **4**: 2652-2660.
8. Cohen A.M.; Teitelbaum A.; Rosenman E. (1977): Diabetes induced by high fructose diet. *Metabolism* **26**: 17-24.
9. Cohen A.M. (1978): Genetically determined response to different ingested carbohydrates in the production of diabetes. *Horm Metab Res* **10**: 86-92.
10. Hallfrish J.; Lazar F.; Reiser S. (1979): Effect on feeding sucrose or starch to rats made diabetic with streptozotocin. *J Nutr* **109**: 1909-1915.
11. Gutman R.; Basilio M.Z.; Bernal C. (1987): Long-Term hypertriglyceridemia and glucose intolerance in rats fed chronically an isocaloric sucrose rich diet. *Metabolism* **36**: 1013-1020.
12. Pagliassotti M.; Prach P.; Koppenhafer T. and Pan D. (1996). Changes in insulin action, triglycerides, and lipid composition during sucrose feeding in rats. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* **271**: R1319-R1326.
13. Reaven G.M.; Risser T.; Chen Y. (1979): Characterization of a model of dietary induced hypertriglyceridemia in young, non obese rats. *J Lipid Res* **20**: 371-378.
14. Reaven G.M. "Diabetic hypertriglyceridemia in the rat: Animal models simulating the clinical syndromes of impaired glucose tolerance, noninsulin-dependent, and insulin dependent diabetes" in *Lessons From Animal Diabetes* (1984) Shafir E.; Renold A. (eds). London, UK. Libbey pp. 531.
15. Del Zotto H.; Massa L.; Gómez Dumm C.L. and Gagliardino J.J. (1999): Changes induced by sucrose administration upon the morphology and function of pancreatic islets in the normal hamster. *Diabetes-Metabolism Research and Reviews* **15**: 106-112.
16. Lombardo Y.B.; Chicco A. (2006): Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review. *J Nutr. Biochem.* **17**: 1-13.
17. Klimes I.; Sebokova E.; Vrana A.; Kazdova L. (1993): Raised dietary intake of n-3 polyunsaturated fatty acids in high sucrose-induced insulin resistance. *Animals studies*. Klimes I; Howard B.V.; Storlien L.; Sebokova E. (ed). *Annals of the New York Academy of Sciences*. "Dietary lipids and insulin action. Second International Smolenice Insulin Symposium". Vol **683**: 69-81.
18. Gutman R.; Basilio M.Z.; Mocchiutti N.; Chicco A.; Lombardo Y.B. (1985): Diazoxide prevents the development of hormonal and metabolic anomalies present in rat fed a

- sucrose rich diet. *Horm. Metab. Res.*, **17**: 491-494.
19. Chicco A.; Basabe J.C.; Karabatas L.; Ferraris N.; Fortino A.; Lombardo Y.B. (2000): Troglitazone (CS-045) normalizes hypertriglyceridemia and restores the altered patterns of glucose-stimulated insulin secretion in dyslipidemic rats. *Metabolism* **49**: 1346-1351.
20. Cohen A.M.; Teitelbaum A. (1964): Effect of dietary sucrose and starch on oral glucose tolerance and insulin-like activity. *Am J Physiol* **206**: 105-108.
21. Reeves P.; Nielsen F. and Fahey G. (1993): AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing Committee on the reformulation of AIN-76A rodent diets. *J. Nutr* **13**: 1939-1951.
22. Roberts C.; Nosratola D.; Liang K.; Barnard R. (2001): Reversibility of chronic experimental Syndrome X by diet modification. *Hypertension* **37**: 1323-1328.
23. Laurell S. (1966): A method for routine determination of plasma triglyceride. *Scan J Clin Lab Invest*, **18**: 668-672.
24. Bergmeyer (1974): 2^o English edition. Academic Press (New York). "Methods of enzymatic analysis". Section D, I-IV. Methods for determination of metabolites.
25. Waco Chemical. Acyl-CoA sintetase (ACS) acyl-CoA oxidase (ACOD). Method for the quantitative dtermination of non esterificated fatty acids in serum. Neuss Germany: Waco Chemical.
26. Herbert V.; Lau K.; Gottlieb C.; Bleicher S. (1965): Coated charcoal immunoassay of insulin. *J Clin Endocrinol Metab*, **25**: 1375-1384.
27. Snedecor G.; Cochran W.G. (1967): *Statistical Methods*. Ames, IA, Iowa State University Press.
28. Chicco A.; D'Alessandro M.E.; Karabatas L.; Pastorale C.; Basabe J.C.; Lombardo Y.B. (2003): Muscle lipid metabolism and insulin secretion are altered in insulin-resistant rats fed high sucrose diet. *J. Nutr.* **133**: 127-133.
29. Newby F.; DiGirolamo M.; Cotsonis G.; Kutner M. (1990): Model of spontaneous obesity in aging male Wistar rats. *Am. J. Physiol.* **259**: R1117-R1125.
30. Zakim D.; Herman R.H.; and Gordon W.C. (1969): The conversion of glucose and fructose to fatty acids in the human liver. *Biochemical Medicine*, **2**: 427-437.
31. Bizeau M.E.; Pagiassotti M.J. (2005): Hepatic adaptations to sucrose and fructose. *Metab Clin and Exp*, **54**: 1189-1201.
32. Mayes P.A.; Laker M.E. (1986): Effects of acute and long-term fructose administration on liver lipid metabolism. *Prog. Biochem. Pharmacol*, **21**: 33-58.
33. Lombardo Y.B.; Drago S.; Chicco A., Fainsteein-Day R.; Gutman R.; Gagliardino J.J.; and Gomez Dummm C.L. (1996): Long-term administration of sucrose-rich diet to normal rats: relationship between metabolic and hormonal profiles and morphological changes in the endocrine pancreas. *Metabolism*, **45**: 1527-1532.
34. Cohen A.M.; Briller S.; Shafir E. (1972): Effect of long-term sucrose feeding on the activity of some enzymes regulating glycolysis, lipogénesis and gluconeogenesis in rat liver and adipose tissue. *Biochem. Biophys Acta* **279**: 129-138.
35. Thorburn A.W.; Storlien L.H.; Jenkins A.B., et al (1989): Association between fructose-induced in vivo insulin resistance and elevated plasma triglyceride levels in rats. *Am J Clin Nutr* **49**: 1115-1163.
36. Zavaroni I.; Chen Y.; Reaven G.M. (1982): Studies of the mechanisms of fructose-induced hypertriglyceridemia in the rat. *Metabolism* **31**: 1077-1083.
37. Lee K.J.; Park K.S.; Park S.W. (1996): Effect of decreasing plasma Free Fatid Acid by Acipimox on Hepatic Glucose Metabolism in Normal Rats. *Metabolism* **45**: 1408-1415.