

## Trabajo completo

# Ingesta de sacarosa durante la preñez y la lactancia: efectos sobre el metabolismo lipídico en la descendencia adulta

RECIBIDO: 08/06/2012

ACEPTADO: 18/07/2012

D' Alessandro ME. • Rojido M. • Chicco A.

Laboratorio de Estudio de Enfermedades Metabólicas Relacionadas con la Nutrición. Departamento de Ciencias Biológicas.

Universidad Nacional del Litoral.

Ciudad Universitaria Paraje El Pozo. S3000ZAA Santa Fe, Argentina.

Teléfono: 0342-4575211. Email: achicco@fbc.unl.edu.ar

**RESUMEN:** La calidad nutricional en etapas tempranas de la vida influye sobre el desarrollo de patologías crónicas del adulto. *Objetivo:* examinar el efecto de la dieta rica en sacarosa (DRS) durante la preñez+lactancia sobre aspectos del metabolismo lipídico de la descendencia alimentada con dieta control (DC) o DRS desde el post-destete y hasta las 21 semanas de vida (grupos: DC-DC, DC-DRS, DRS-DRS y DRS-DC). *Resultados:* -En los grupos DC-DRS, DRS-DRS y DRS-DC observamos mayor adiposidad, peso corporal normal y dislipidemia. Esta última resulta de acelerada secreción hepática de VLDL-Tg y mayor contenido de triglicéridos hepáticos asociado a mayor actividad de enzimas lipogénicas hepáticas: acetil-CoA carboxilasa y enzima málica ( $p < 0.05$  vs DC-DC). La actividad Glucosa-6-P-deshidrogenasa hepática fue mayor solo en los grupos DC-DRS y DRS-DRS comparado a DRS-DC y DC-DC. *Conclusión:* la exposición temprana a DRS conlleva en la adultez a cambios desfavorables en el

metabolismo lipídico independientemente que la dieta post-lactancia sea DC o DRS.

**PALABRAS CLAVE:** Dieta rica en sacarosa, Preñez + Lactancia, Enzimas lipogénicas hepáticas-Dislipemia.

**SUMMARY:** *Sucrose-rich diet during pregnancy and lactation: Effects on the lipids metabolism of the adult progeny.*

Nutrition quality during the early steps of life has a high influence on the development of chronic adult diseases. The present study examined the effect of a sucrose-rich diet (SRD) fed to dams during pregnancy+lactation on the lipid metabolism of their adult progeny, fed a control diet (CD) or a SRD after weaning to 21 weeks of life (CD-CD, CD-SRD, SRD-SRD, SRD-CD groups). Results: Final body weight was similar between the groups although adiposity and plasma lipids were significantly higher in CD-SRD, SRD-SRD and SRD-CD vs CD-CD. The dyslipidemia was the result of an increased VLDL-Tg secretion rate and elevated liver triglyceride pool. The novo

hepatic lipogenic enzymes acetyl-CoA carboxylase and malic enzyme were significantly higher in rats exposed to SRD at any period of life. On the other hand, the hepatic glucose-6-P-dehydrogenase activity was significantly higher ( $p < 0.05$ ) in DC-DRS and DRS-DRS compared to CD-CD and

SRD-CD. Conclusion: An early life exposure to a SRD is associated with changes in lipid metabolism in the adult life regardless whether offspring consumed an SRD after weaning.

**KEYWORDS.** Sucrose-rich diet, Pregnancy + Lactation – Hepatic lipogenic enzymes, Dyslipidemia.

---

## Introducción

Enfermedades crónicas tales como diabetes, hipertensión, dislipidemia, obesidad y enfermedad cardiovascular - de alta incidencia en la población mundial e incluidas en el conocido Síndrome Metabólico (SM)-, son causas líderes de discapacidad y muerte. Resultados epidemiológicos recientes, sugieren que muchas de estas enfermedades del adulto pueden tener origen en condiciones subóptimas tales como una mala nutrición materna, pobre salud gestacional o un excesivo estrés oxidativo en la vida intrauterina (1-3). Un bajo peso o altura al nacer se asocian con elevado riesgo de padecer enfermedad cardiovascular, obesidad y diabetes insulino no dependiente en la vida adulta (4). Este fenómeno es conocido como el "origen evolutivo de la salud y la enfermedad" (5). Más aún, se ha observado que hijos de madres obesas o con diabetes gestacional, presentan una alta incidencia de obesidad y de diabetes tipo 2 tanto en la niñez como en la vida adulta (6-7). A nivel experimental, la mayor parte de los estudios que tratan de entender estos fenómenos, exploraron el impacto de ingestas pobre en proteínas, hipocalóricas, con exceso de grasa saturada o dietas combinadas ricas en grasa, hidratos de carbono y sal (junk food), durante la gestación y/o lactancia, sobre la aparición de las patologías incluidas en el SM durante la vida adulta de la descendencia (5,8-12).

Desde hace un tiempo, otros de los macro nutrientes que cobraron importancia son los hidratos de carbono simples. El consumo de estos azúcares ha incrementado un 30% en los últimos 20 años dado la extensa distribución de los jarabes ricos en fructosa en las comidas y bebidas (13). Cambios en la cantidad o tipo de estos macro nutrientes en la dieta materna también mostraron tener efectos en los destinos metabólicos finales de la descendencia ya sea en los primeros estadios de vida post natal (14-16) o en la vida adulta (17-18). Hiperinsulinemia, dislipidemia y acumulación hepática de lípidos fue descrito en crías de 11 semanas de vida alimentadas con fructosa (60% p/p) provenientes de madres alimentadas con esa misma dieta durante la preñez y la lactancia (19). En una experiencia en paralelo, los mismos autores demostraron que si las crías continuaban expuestas a la dieta materna (muy alto contenido de fructosa) por un período de 23 semanas, los hallazgos previamente descritos se acompañaban de un anormal estado antioxidante hepático. Estudios previos de nuestro grupo (20) utilizando sacarosa (fructosa + glucosa 50:50) (63% p/p) como fuente dietaria demostraron una exagerada hipertrigliceridemia al día 20 de gestación. La misma es producto de una mayor secreción hepática y menor remoción plasmática de triglicéridos, que en su conjunto

contribuiría al efecto negativo sobre el desarrollo fetal que conduce a un menor peso del concepto asociado a fetos más pequeños y con menor peso de la placenta. Más recientemente D´Alessandro y col (21) observaron dislipidemia, alterado metabolismo glucídico (menor tolerancia a la glucosa y a la insulina) y mayor contenido hepático de triglicéridos en crías machos de 14 semanas de edad provenientes de madres alimentadas con DRS durante la preñez y la lactancia. Estas alteraciones fueron independientes del tipo de ingesta de las crías durante la post-lactancia (dieta control o dieta rica en sacarosa).

Teniendo en cuenta el concepto de programación fetal el objetivo del presente trabajo fue profundizar los estudios previamente descritos analizando en las crías de madres alimentadas con DRS durante la preñez y la lactancia aspectos del metabolismo lipídico al alcanzar el estado de adulto joven (21 semanas de vida). Particularmente analizamos: niveles de lípidos plasmáticos, contenido de triglicéridos hepáticos, actividades de enzimas involucradas en la síntesis de novo de ácidos grasos y secreción de VLDL-Tg, en las crías que: continúan con la misma dieta materna luego del destete (es decir siguen sometidas a la misma injuria durante su vida fetal y los primeros estadios de vida) o son alimentadas con dieta control.

## **Materiales y métodos**

### *Animales y Dietas*

Se utilizaron ratas hembras de la cepa Wistar provenientes de la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), Buenos Aires, Argentina, con un peso inicial de 200-230 gramos. Los machos para el apareo fueron de la misma especie. Los animales fueron alojados en un bioterio climatizado con ciclo luz-oscuridad de 12 horas (7:00 – 19:00), temperatura constante ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y humedad controlada, con libre acceso al agua y a una dieta estándar comercial de laboratorio (Ralston, Purina, St Louis, MO USA). Cada hembra fue apareada con un macho y se determinó la preñez por aparición de espermatozoides en el flujo vaginal (día uno de gestación). A este tiempo, las ratas hembras fueron divididas al azar en dos grupos, transferidas a jaulas individuales y asignadas a las siguientes dietas: el primer grupo recibió una dieta semi-sintética cuya fuente de hidratos de carbono fue almidón 62.5% (p/p) (dieta control DC). El otro grupo recibió una dieta rica en sacarosa (DRS) donde el almidón fue reemplazado por sacarosa 62.5%. El resto de los componentes de ambas dietas fueron de acuerdo a lo establecido por el Comité ad Hoc del Instituto Americano de Nutrición, según se detalla en la Tabla 1. Las dietas son isoenergéticas, y proveen aproximadamente 16.3 kJ/ g de comida y fueron preparadas semanalmente. La preparación y el manejo de las dietas han sido descriptas previamente (22).

**Tabla 1.** Composición de las dietas experimentales<sup>1</sup>

INGREDIENTES	Dieta Control (DC)	Dieta Rica en Sacarosa (DRS)
	% peso	% en peso
Caseína libre de vitaminas	17.0	17.0
Mezcla de sales <sup>2</sup>	3.5	3.5
Mezcla de vitaminas <sup>3</sup>	1.0	1.0
Cloruro de colina	0.2	0.2
Metionina	0.3	0.3
Celulosa	7.5	7.5
Almidón de maíz	62.5	
Sacarosa		62.5
Aceite de maíz	8.0	8.0

<sup>1</sup>: Las dietas están basadas en AIN-93M

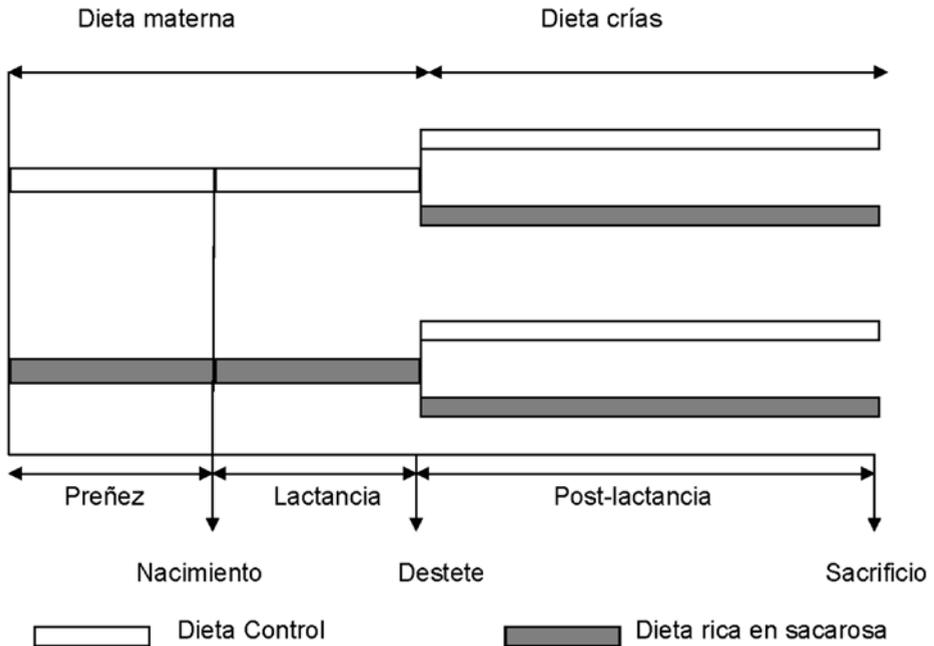
<sup>2</sup>: La mezcla de sales está de acuerdo con la mezcla AIN-93M (en g/kg de mezcla): carbonato de calcio, 357,0; fosfato monobásico de potasio 250,0; cloruro de sodio, 74,0; sulfato de potasio, 46,6; citrato de potasio (monohidratro-tri-potasio) 26,9; óxido de magnesio, 24,0; citrato férrico, 6,06; carbonato de zinc, 1,65; carbonato de manganeso, 0,63; carbonato cúprico, 0,30; ioduro de potasio, 0,01; selenato de sodio, 0,01025; p-molibdato de amonio, 0,00795; sulfato crómico-potásico, 0,2174.

<sup>3</sup>: La mezcla de vitaminas está de acuerdo con la mezcla AIN-93M (en g/kg de mezcla): niacina, 3,00; pantotenato de calcio, 1,60; piridoxina HCl, 0,70; tiamina HCl, 0,60; riboflavina, 0,60; ácido fólico, 0,20; d-biotina, 0,02; vitamina B-12, 2,5; vitamina E (500 UI/g), 15,0; vitamina A (500.000 UI/g) 0,80; vitamina D3 (400.000 UI/g), 0,25; vitamina K, 0,075.

Al nacer, las crías fueron pesadas y reducidas a un número de 8 por madre, en lo posible con el mismo número de crías hembras y crías machos y mantenidas con sus propias madres hasta el destete. A este tiempo (21 días post parto) las crías machos de cada lote fueron pesadas y asignadas al azar a la DC o DRS hasta las 21 semanas de vida (Figura 1). La elección

de realizar el estudio con las crías machos tiene como objetivo evitar el efecto de las diferentes hormonas sexuales sobre el metabolismo lipídico. A partir de este protocolo experimental se definió a las crías de madres alimentadas con DC y DRS de acuerdo a sus dietas post lactancia como DC-DC, DC-DRS y DRS-DRS, DRS-DC respectivamente.

Figura 1. Diseño Experimental



A lo largo del período experimental, tanto las madres como las crías tuvieron libre acceso al agua y comida y fueron mantenidas bajo condiciones controladas de bioterio. La ingesta calórica y el peso corporal de las crías se determinaron semanalmente. Al final del período experimental, la comida fue retirada a las 7.00 hs (final del período de oscuridad) y a menos que se indique lo contrario los experimentos se llevaron a cabo entre las 08:00 y las 10:00 hs. El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral.

#### Métodos Analíticos

Los animales fueron anestesiados con una inyección de pentobarbital (60 mg/Kg de peso corporal). Las muestras de sangre fueron extraídas de las venas cavas inferiores y centrifugadas inmediatamente a 4°C. El suero fue utilizado inmediatamente o conservado a -20°C hasta su procesamiento (aproximadamente 1 semana). Inmediatamente se extrajeron y se pesaron el músculo cardíaco, y los tejidos adiposos retroperitoneal y epididimal. Muestras de tejido hepático fueron rápidamente removidas, pesadas y congeladas con una pinza Wollenberger previamente enfriada en nieve

carbónica y conservadas a la temperatura del nitrógeno líquido hasta su procesamiento. Los niveles plasmáticos de glucosa, triglicéridos (Tg) y ácidos grasos no esterificados (AGNE) fueron cuantificados por métodos espectrofotométricos convencionales (22) y la insulina plasmática se determinó mediante RIA (22). Homogeneizados de tejido hepático fueron utilizados para la cuantificación del contenido de Tg tisulares (22) y para la determinación de las actividades enzimáticas que se detallan a continuación.

#### *Actividades enzimáticas*

##### *Acetil-CoA carboxilasa (ACC)*

Una muestra de tejido hepático fue homogeneizado en buffer de fosfato (pH=7.0) como se describió previamente (23). La actividad ACC se cuantificó espectrofotométricamente de acuerdo a la técnica descrita por Zimmermann y col (24). Una unidad de actividad enzimática se define como la cantidad de enzima que cataliza la formación de 1  $\mu$ mol de malonil-CoA o ADP bajo las condiciones experimentales previamente descritas. La concentración de proteínas se determinó por el método de Lowry (25). Los resultados fueron expresados como mU/mg proteína.

##### *Enzima Mállica (EM)*

La actividad de la EM fue cuantificada como describiéramos previamente (23) mediante el método propuesto por Ochoa mediante el método propuesto por Ochoa con una pequeña modificación de acuerdo a Hsu y col (26) utilizando malato como sustrato. Una unidad de actividad enzimática representa la formación de 1  $\mu$ mol de NADPH por minuto a 340 nm y a 37 °C. La

concentración de proteínas se determinó por el método de Lowry (25). Los resultados fueron expresados como mU/mg proteína.

##### *Glucosa-6-P-deshidrogenasa (G-6-PDH)*

La actividad de la enzima G-6-PDH fue analizada como se describió previamente (23). La velocidad de formación de NADPH, expresada en  $\mu$ mol/minuto, representa la actividad enzimática de la G-6-PDH. La concentración de proteínas se determinó por el método de Lowry (25). Los resultados fueron expresados como mU/mg proteína.

##### *Secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL-Tg) in vivo*

La secreción hepática de VLDL-Tg se evaluó en animales ayunados (16-18 hs) y anestesiados, utilizando para tal fin la administración de un detergente no iónico Triton WR 1339 que bloquea la remoción plasmática de triglicéridos (27).

##### *Análisis Estadístico*

Los tamaños de las muestras se calcularon en base a mediciones previas realizadas con ratas alimentadas con DC o DRS (20-23). Los resultados se expresan como media  $\pm$  SEM. El análisis estadístico se llevó a cabo con SPSS versión 17.0 (SSPS, Chicago IL, USA). La significación estadística se determinó por el test "t" de Student. Cuando fue apropiado los datos fueron analizados utilizando análisis de variancia (ANOVA) con preñez + lactancia y post-lactancia como los efectos mayores. Cuando se encontró significación, se realizó la comparación post hoc con el test de Tukey (28). Diferencias con valores de  $p < 0.05$  se consideraron estadísticamente significativas.

## Resultados

### *Ganancia de peso de las crías de madres alimentadas con DC y DRS desde el nacimiento al destete*

Como habíamos demostrado previamente (20,21) la alimentación con DRS durante la preñez conduce a una reducción del peso corporal de las crías al nacimiento

cuando se las compara con aquellas nacidas de madres alimentadas con DC. Sin embargo a los 21 días de vida –momento del destete- se observa un incremento significativo tanto del peso corporal como de la ganancia de peso en las crías provenientes de madres alimentadas con DRS durante la preñez y la lactancia (Tabla 2).

**Tabla 2.** Pesos al nacer y al destete de las crías de madres alimentadas con dieta control (DC) o con dieta rica en sacarosa (DRS)<sup>1</sup>

Grupo	Peso al nacer(g)	Peso al destete (g)	Δ Peso corporal
DC (60)	6,043 ± 0,038 <sup>a</sup>	34,05 ± 0,065 <sup>b</sup>	28,00 ± 0,69 <sup>b</sup>
DRS (60)	5,598 ± 0,019 <sup>b</sup>	38,00 ± 0,52 <sup>a</sup>	31,97 ± 0,78 <sup>a</sup>

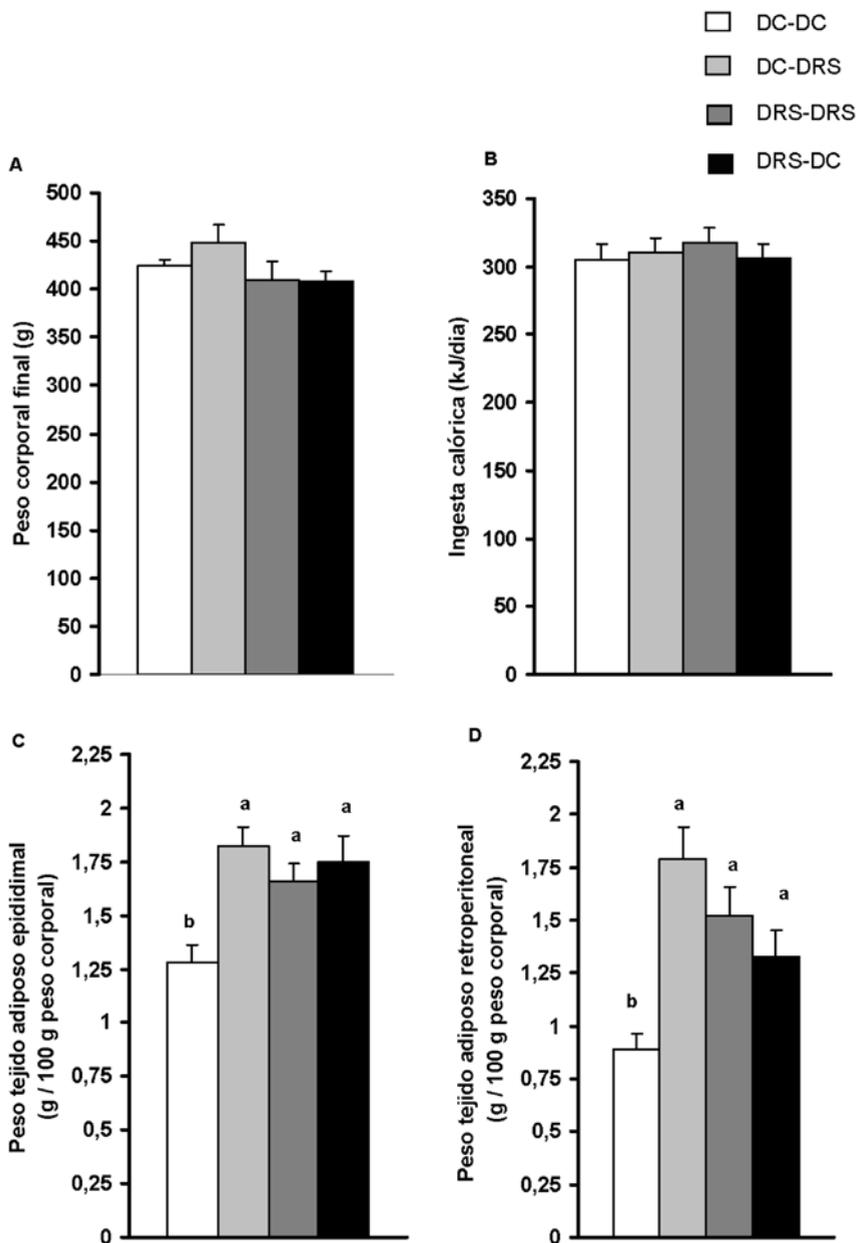
<sup>1</sup>: Los valores se expresan como media ± SEM, ( ) número de crías. Los valores en cada columna que no comparten la misma letra superescrita son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) analizados por el test de Student.

### *Peso corporal final e ingesta calórica de las crías a los 150 días de vida*

En la Figura 2 se muestra el peso corporal (A) y la ingesta calórica (B) promedio de las crías de cada grupo experimental a las 21 semanas de vida. Si bien no se observa diferencias entre los grupos en ninguno de los parámetros mencionados, una mayor adiposidad es expresada como incremento

del peso de los tejidos adiposos epididimal y retroperitoneal (C y D) en los grupos donde la DRS estuvo presente en cualquier estadio de la vida comparado los animales del grupo DC-DC. No se observaron diferencias significativas en el peso absoluto o relativo del tejido hepático y cardíaco entre los distintos grupos (datos no mostrados).

**Figura 2.** Peso corporal (A), ingesta calórica (B) y peso de tejidos adiposos epididimal (C) y retroperitoneal (D) en crías de los diferentes grupos experimentales a las 21 semanas de vida.



Los valores se expresan como media  $\pm$  SEM (n=6). Las medias que no comparten la misma letra superescrita son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) de acuerdo al test de Tukey.

*Niveles de Tg, AGNE, Glucosa e Insulina plasmáticos*

La Tabla 3 describe los niveles plasmáticos de lípidos, glucosa e insulina en las crías de los diferentes grupos a las 21 semanas de vida. Los niveles de Tg y AGNE fueron significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) cuando la sacarosa estuvo presente durante el período post-destete (DC-DRS y DRS-DRS vs DC-DC). Las crías alimentadas con DC provenientes de madres alimentadas con sacarosa (grupo DRS-DC) presentan niveles de Tg plasmáticos signi-

ficativamente superiores a los observados en DC-DC aunque menores a los del grupo DC-DRS y DRS-DRS. Los niveles de AGNE del grupo DRS-DC, son ligeramente mayores a los observados en el grupo DC-DC pero sin alcanzar una diferencia significativa. El incremento de la glucosa plasmática se observa en los animales alimentados con DRS posterior al destete independientemente de la presencia o ausencia de sacarosa en la preñez + lactancia. No se observan cambios en los niveles de insulina en ningún grupo experimental.

**Tabla 3.** Metabolitos plasmáticos y concentración de insulina al final del período experimental<sup>1</sup>

Grupo	Glucosa (mM)	Insulina ( $\mu$ U/ml)	Triglicéridos (mM)	AGNE ( $\mu$ M)
DC-DC	5,39 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	80,10 $\pm$ 7,22	0,80 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>	440 $\pm$ 20 <sup>b</sup>
DC-DRS	7,05 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>	77,90 $\pm$ 22,07	1,49 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>	658 $\pm$ 33 <sup>a</sup>
DRS-DRS	7,01 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	88,56 $\pm$ 12,39	1,60 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	695 $\pm$ 29 <sup>a</sup>
DRS-DC	5,79 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>	66,26 $\pm$ 8,70	1,20 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>	532 $\pm$ 39 <sup>a,b</sup>

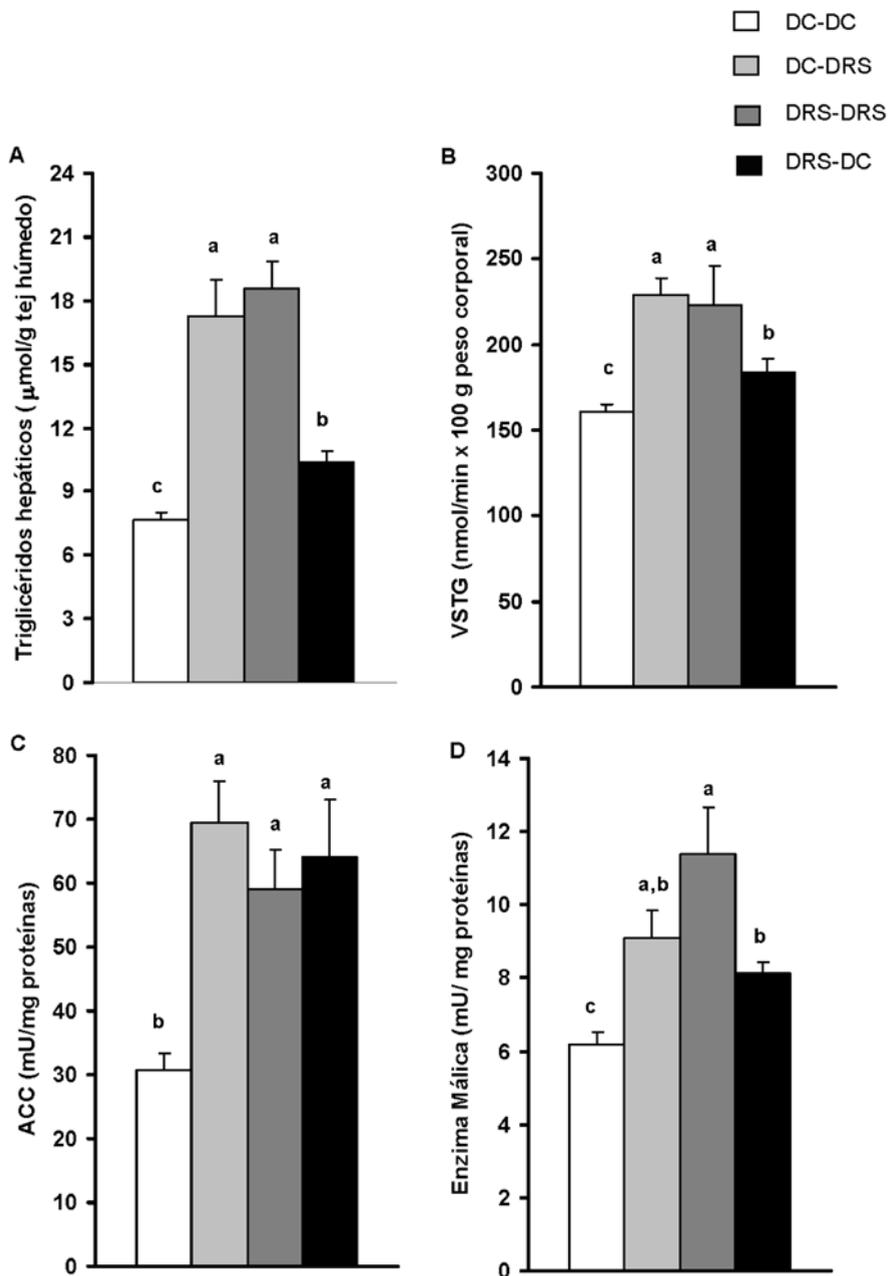
<sup>1</sup>: Los resultados se expresan como media  $\pm$  SEM, n=6. Los valores en cada columna que no comparten la misma letra superescrita son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) cuando cada variable es analizada por el test de Tukey.

*Contenido de triglicéridos, secreción de VLDL-Tg y actividades de enzimas lipogénicas en tejido hepático*

El mayor contenido hepático de triglicéridos observados en los grupos donde la DRS estuvo presente en cualquier estadio de la vida (DC-DRS, DRS-DRS y DRS-DC) se acompaña de una mayor actividad de las enzimas lipogénicas ACC, EM y acelerada secreción de VLDL-Tg, comparados con el grupo DC-DC (Figura 3A, 3D, 3C y 3B respectivamente). Cabe considerar, que tanto el contenido hepático de Tg como la secreción de VLDL-Tg en el grupo DRS-DC

es significativamente diferente a los grupos DC-DRS y DRS-DRS. La actividad enzimática Glucosa-6-P-deshidrogenasa mostró cambios significativos en los animales alimentados con DRS durante la post-lactancia independientemente de la dieta administrada durante la preñez y la lactancia. En el grupo DC-DRS y DRS-DRS incrementó 1,8 y 2,3 veces respectivamente respecto al grupo DC-DC mientras que en el grupo alimentado con DC en la post-lactancia proveniente de madres alimentadas con DRS no presentó modificaciones en esta actividad enzimática (datos no mostrados).

**Figura 3.** Contenido de triglicéridos (Tg) hepáticos (A), velocidad de secreción hepática de VLDL-Tg (B) y actividad enzimática acetil-CoA carboxilasa (ACC) (C) y enzima málica (EM) (D) en crías de los diferentes grupos experimentales a las 21 semanas de vida.



Los valores se expresan como media  $\pm$  SEM ( $n=6$ ). Las medias que no comparten la misma letra superescrita son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) de acuerdo al test de Tukey.

## Discusión

La composición de la dieta en los primeros estadios de la vida influencia la susceptibilidad de los individuos a desarrollar enfermedades crónicas en su etapa de vida adulta. En el presente trabajo examinamos el efecto de la dieta rica en sacarosa durante la preñez y la lactancia sobre aspectos del metabolismo lipídico de la descendencia alimentada con DC o DRS en el post-destete y hasta las 21 semanas de vida. Los resultados se compararon con los de crías alimentadas con DC o DRS provenientes de madres alimentadas con DC durante la preñez y la lactancia. Los principales hallazgos mostraron que: 1) El peso corporal al final del período experimental (21 semanas) entre los diferentes grupos fue semejante a pesar que las crías de madres DRS fueron más pequeñas al nacer que las crías provenientes de madres alimentadas con DC, 2) Una mayor adiposidad y elevados niveles de lípidos circulantes se observan en los lotes donde la DRS estuvo presente en cualquier estadio de la vida comparado con los animales del grupo DC-DC; 3) En hígado, los grupos DC-DRS, DRS-DRS y DRS-DC, mostraron un incremento en el contenido de triglicéridos, acompañado de mayor secreción hepática de VLDL-Tg y elevadas actividades de las enzimas lipogénicas ACC y EM. La actividad Glucosa-6-P-deshidrogenasa solo se vio incrementada cuando la DRS estuvo presente en el post-destete independientemente de la dieta materna durante la preñez y la lactancia; 4) Niveles plasmáticos elevados de glucosa se observan en los grupos DC-DRS y DRS-DRS comparados con DC-DC y DRS-DC. No se observaron cambios en los niveles circulantes de insulina en ninguno de los grupos.

Concordantes con resultados previos (20,21) las crías de madres alimentadas con DRS son más pequeñas al nacer. La hipertrigliceridemia materna inducida por DRS ejercería un efecto negativo en el desarrollo fetal (20). Más aún, trabajos de Jen y col (14) y Rawana y col (15) sugieren una alteración en el transporte de sustratos desde la placenta al feto cuando la fructosa está presente en la dieta materna.

El mayor incremento de peso observado en las crías desde su nacimiento al momento del destete que se observa en el grupo provenientes de madres alimentadas con DRS concuerda con resultados previos de nuestro grupo (21). A pesar de esta diferencia en el crecimiento durante la lactancia, al finalizar el período experimental, no hubo diferencias de peso corporal ni en la ingesta calórica entre los diferentes grupos experimentales. Bouillon y col (29) constataron en cepas susceptibles a los carbohidratos (BHE) un mayor peso corporal a los 150 días de vida de las crías alimentadas con sacarosa provenientes de madres alimentadas con la misma dieta durante la preñez y la lactancia. Otros estudios en los cuales se administró fructosa a roedores solo en la post-lactancia y en el agua de bebida (30) o sacarosa en dietas sólidas durante la preñez, lactancia y post-lactancia y por diferentes periodos de tiempo (19,31) no observaron ninguna diferencia en el peso corporal con respecto a animales alimentados con dieta control. Estos datos nos sugieren que la ganancia de peso estaría relacionada tanto a edad de inicio de la ingesta, el tiempo de duración de la misma así como a la cantidad y tipo de hidrato de carbono administrado.

Srinivisan y col (32) observaron una mayor adiposidad y Huynt y col (33) mayor

adiposidad responsable del mayor peso corporal asociado a hiperleptinemia, en ratas que consumieron artificialmente leche muy rica en carbohidratos durante la lactancia y dieta control luego del destete. En el presente trabajo no determinamos el contenido de leptina circulante pero utilizando el modelo de ratas adultas alimentadas con DRS por períodos prolongados de tiempo hemos demostrado incremento de peso corporal, una mayor deposición de tejido adiposo, asociado a un acelerada lipólisis basal, y alterada secreción de leptina desde los adipositos aislados (34).

La adiposidad observada en el grupo expuesto a DRS solo durante la preñez y lactancia (DRS-DC) fue un hallazgo poco esperado. Buillon y col (29) utilizando el modelo de rata sensible a los carbohidratos (BHE) no observaron diferencias en el peso del tejido adiposo en crías de madres alimentadas con dieta rica en sacarosa (preñez+lactancia) y con dieta control desde el destete. Por otra parte, con un protocolo experimental semejante al presente, pero cuando la dieta materna es la "junk food", Bayol y col (35) observaron mayor adiposidad debido a hipertrofia de los adipositos en las crías adultas alimentadas con dieta control desde el post-destete.

El pool intracelular de triglicéridos hepáticos resulta del balance entre captación y esterificación de los ácidos grasos circulantes, la síntesis de novo a partir de acetil-CoA y la degradación de los mismos por lipólisis/beta-oxidación. Cuando la dieta rica en sacarosa estuvo presente en la post-lactancia, independientemente de la dieta materna, el mayor contenido de triglicéridos hepáticos se asoció a mayor actividad de enzimas lipogénicas y acelerada secreción de VLDL-Tg. Un número considerable

de evidencias muestran la habilidad de la fructosa, componente de la sacarosa dietaria, en incrementar la lipogénesis que conllevan a una mayor síntesis y secreción de VLDL-Tg (para revisión ver 35). Un factor de transcripción muy importante involucrado en esta regulación de la síntesis de las enzimas lipogénicas hepáticas es el SREBP (36). En trabajos previos hemos demostrado una mayor actividad de estas enzimas lipogénicas hepáticas y mayor masa proteica del SREBP en ratas adultas expuestas a dietas ricas en sacarosa en forma crónica (23). Por otra parte es conocido que las dietas ricas en sacarosa/fructosa son capaces de inducir una menor oxidación de ácidos grasos a través de la regulación negativa del factor de transcripción PPAR $\alpha$  y de sus enzimas target. En su conjunto estos mecanismos contribuirían al mayor contenido de triglicéridos hepáticos en los grupos alimentados con sacarosa desde el destete. Más aún, los niveles elevados de triglicéridos circulantes en estos animales paralelan los incrementos en el contenido de triglicéridos hepáticos y de AGNE circulantes. Esto sugeriría que una mayor lipólisis del tejido adiposo podría incrementar la disponibilidad de AGNE para la síntesis de triglicéridos del tejido hepático y su liberación a la circulación como VLDL-Tg.

Nuevamente, un hallazgo interesante fue el observado en el grupo de animales donde la sacarosa solo estuvo presente durante la preñez y la lactancia. Al prolongarse el período de vida observamos un mayor deterioro del metabolismo lipídico como consecuencia de la exposición temprana a la DRS. En este largo plazo al acumulo de triglicéridos hepáticos, se le suma una mayor secreción de VLDL-Tg y adiposidad visceral que no se observaba cuando los animales alcan-

zaban las 14 semanas de vida. Las enzimas lipogénicas hepáticas también están incrementadas a excepción de la glucosa-6-P-deshidrogenasa. Al presente, son escasos los estudios que analizan estas actividades enzimáticas en condiciones semejantes. Berdanier y col, utilizando un modelo de rata genético susceptible a los hidratos de carbono mostró un alto contenido de triglicéridos hepáticos y menor actividad G-6-PDH sin cambios en la actividad EM cuando la dieta control fue utilizada en la post-lactancia en crías provenientes de madres alimentadas con sacarosa (18). Recientemente Ching y col (19) alimentaron ratas con un excesivamente alto contenido en fructosa (60% p/p) durante su preñez y lactancia y observaron en las crías alimentadas por 14 semanas con dieta control una dislipemia y elevado contenido de Tg hepáticos acompañado de una estimulación génica de la Acetil-CoA carboxilasa 2, sugiriendo que alguna alteración/señal es inducida durante los primeros estadios de vida y permanece aun cuando la dieta control esta presente desde la post-lactancia.

En conclusión, los resultados del presente trabajo demuestran la existencia de una compleja influencia de dietas ricas en sacarosa durante la preñez y la lactancia sobre el metabolismo lipídico hepático de sus crías independientemente del tipo de ingesta en la post-lactancia. Si bien son necesarios estudios más profundos para comprender estos mecanismos, estos hallazgos enfatizan la importancia que tienen dietas balanceadas desde los primeros estadios de la vida para poder disminuir los riesgos de incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles en la adultez.

## Agradecimientos

El presente estudio fue financiado por Universidad Nacional del Litoral CAI+D PI 8-38 (2009) y Fundación Alberto Roemmers Subsidio a la Investigación Bioquímica (Argentina).

## Referencias bibliográficas

1. Mcmillian, I.C. y Robinsion, J.S., 2005. Developmental origins of the metabolic syndrome: Prediction, plasticity and programming. *Physiological Reviews*. **85**:571-633.
2. Symonds, M.E.; Sebert, S.P.; Hyatt, M.A. y Budge, H., 2009. Nutritional programming of the metabolic syndrome. *Nature Reviews Endocrinology*. **5**: 604-610.
3. Bruce, K.D. y Hanson, M.A., 2010. The developmental origins, mechanisms and implications of metabolic syndrome. *J. of Nutr.* **140**: 648-652.
4. Risbridger, G.P.; Drummond, A.E. y Wlodek, M., 2005. Reproduction, development, and the early origins of adult disease. *Cell Tissue Res*. **322**: 3. DOI 10.1007/s00441-005-0079-y
5. Hales, C.N. y Barker, D.J., 2001. The thrifty phenotype hypothesis. *Br. Med. Bull.* **60**: 5-20.
6. Catalano, P.M. y Ehrenberg, H.M., 2006. The short and the long-term implications of maternal obesity on the mother and her offspring. *An. Int. J. Obstetrics Gynecol.* **113**: 1126-1133.
7. Plageman, A.; Harder, T.; Kohlhoff, R.; Rohde, W. y Dormer, G., 1997. Overweight and obesity in infants of mother with long-term insulin-dependent diabetes or gestational diabetes. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **21**: 451-456.
8. Taylor, P.D. y Poston, L., 2007. Developmental programming of obesity in mammals. *Exp. Physiol.* **92**: 287-298.
9. Ozanne, S.E.; Wang, C.L.; Coleman, N. y Smith, G.D., 1996. Altered muscle insulin sensitivity in the male offspring of protein-malnourished rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **271**: E1128-E1134.

10. Khan, I.Y.; Dekou, V.; Douglas, G.; Jense, R.; Hanson, M.A.; Poston L. y Taylor, P.D., 2005. A high-fat diet during rat pregnancy or suckling induces cardiovascular dysfunction in adult offspring. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **288**: R127–R133.
11. Buckley, A.J.; Keseru, B.; Briody, J.; Thompson, M.; Ozanne, S.E. y Thompson, C.D., 2005. Altered body composition and metabolism in the male offspring of high fat-fed rats. *Metabolism.* **54**: 500-507.
12. Bayol, S.A.; Simbi, B.H.; Fowkes, R.C. y Stickland, N.C., 2010. A maternal 'junk food' diet in pregnancy and lactation promotes nonalcoholic fatty liver disease in rat offspring. *Endocrinology.* **151**: 1451–1461.
13. Rizkalla, S.W., 2010. Health implications of fructose consumption: A review of recent data. *Nutrition & Metabolism.* **7**: 82 doi:10.1186/1743-7075-7-82
14. Jen, K.L.; Rochon, C.; Zhong, S. y Whitcomb, L., 1991. Fructose and sucrose feeding during pregnancy and lactation in rats changes maternal and pup fuel metabolism. *J. Nutr.* **121**: 1999–2005.
15. Rawana, S.; Clark, K.; Zhong, S.; Buison, A.; Chackunkal, S. y Jen, K.L.C., 1993. Low dose fructose ingestion during gestation and lactation affects carbohydrate metabolism in rat dams and their offspring. *J. Nutr.* **123**: 2158–2165.
16. Vickers, M.H.; Clayton, Z.E.; Yap, C. y Sloboda, D.M., 2011. Maternal fructose intake during pregnancy and lactation alters placental growth and leads to sex-specific changes in fetal and neonatal endocrine function. *Endocrinology.* **152**: 1378–1387.
17. Ghezzi, A.C.; Cambri, L.T.; Ribeiro, C.; Botezelli, J.D. y Mello, M.A.R., 2011. Impact of early fructose intake on metabolic profile and aerobic capacity of rats. *Lipids Health Dis.* **10**: 3.
18. Berdanier, C.D., 1975. Effect of maternal sucrose intake on the metabolic patterns of mature rat progeny. *Am. J. Clin. Nutr.* **28**: 1416–1421.
19. Ching, R.H.H.; Yeung, L.O.Y.; Tse, I.M.Y.; Sit, W-H. y Li, E.T.S., 2011. Supplementation of bitter melon to rats fed a high-fructose diet during gestation and lactation ameliorates fructose-induced dyslipidemia and hepatic oxidative stress in male offspring. *J. Nutr.* **141**:1664-1672.
20. Soria, A.; Chicco, A.; Mocchiutti, N.; Gutman, R.; Lombardo, Y.B.; Martin-Hidalgo, A. y Herrera, E., 1996. A sucrose rich diet affects triglyceride metabolism differently in pregnant and non pregnant rats and has negative effects on fetal growth. *J. Nutr.* **126**:2481-2486.
21. D'Alessandro, M.E.; Oliva, M.E.; Ferreira, M.R.; Selenscig, D.; Lombardo, Y.B. y Chicco, A., 2012. Sucrose-rich feeding during rat pregnancy-lactation and/or after weaning alters glucose and lipid metabolism in adult offspring. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* doi: 10.1111/j.1440-1681.2012.05720.x
22. Chicco, A.; D'Alessandro, M.E.; Karabatas, L.; Pastorale, C.; Basabe, J.C. y Lombardo, Y.B., 2003. Muscle lipid metabolism and insulin secretion are altered in insulin-resistant rats fed a high sucrose diet. *J. Nutr.* **133**: 127–133.
23. Hein, G.J.; Bernasconi, A.M.; Montanaro, M.A.; Pellon-Maison, M.; Finarelli, G.; Chicco, A.; Lombardo, Y.B. y Brenner, R.R., 2010. Nuclear receptors and hepatic lipogenic enzyme response to a dyslipidemic sucrose-rich diet and its reversal by fish oil n-3 polyunsaturated fatty acids. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **298**: E429–E439.
24. Zimmermann, R.; Haemmerle, G.; Wagner, E.M. Strauss, J.G.; Kratky, D. y Zechner, R., 2003. Decreased fatty acid esterification compensates for the reduced lipolytic activity in hormone-sensitive lipase-deficient white adipose tissue. *J. Lipid Res.* **44**: 2089-2099.
25. Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L. y Randall, R.J., 1951. Protein measurement with

- the folin phenol reagen. *J. Biol. Chem.* **193**: 264-275.
- 26.** Hsu, R.Y. y Lardy, H.A. Malic enzyme In: *Methods of Enzymology*, vol 13, edited by Lowenstein J.M. New York: Academic, 1969, p. 230–235.
- 27.** Lombardo, Y.B.; Chicco, A.; D' Alessandro, M.E.; Martinelli, M.; Soria, A. y Gutman, R., 1996. Dietary fish oil normalizes dyslipidemia and glucose intolerance with unchanged insulin levels in rats fed a high sucrose diet. *Biochem. Biophys. Acta.* **1299**: 175-182.
- 28.** Snedecor, G.W.P. y Cochran, W.G., 1967. *Statistical methods*, Ames. Iowa State University Press.
- 29.** Bouillon, D.J. y Berdanier, C.D., 1983. Effect of maternal carbohydrate intake on mitochondrial activity and on lipogenesis by the young and mature progeny. *J. Nutr.* **113**: 2205-2216.
- 30.** Alzamendi, A.; Castrogiovanni, D.; Gaillard, R.C.; Spinedi, E. y Giovambattista, A., 2010. Increased male offspring's risk of metabolic-neuroendocrine dysfunction and overweight after fructose-rich diet intake by the lactating mother. *Endocrinology.* **151**: 4214-4223.
- 31.** Sedova, L.; Seda, O.; Kazdova, L.; Chylikova, B.; Hamet, P.; Tremblay, J.; Kren, V. y Krenova, D., 2007. Sucrose feeding during pregnancy and lactation elicits distinct metabolic response in offspring of an inbred genetic model of metabolic syndrome. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **292**: E1318-E1324.
- 32.** Bayol, S.A.; Simbi, B.H.; Bertrand, J.A. y Stickland, N.C., 2008. Offspring from mothers fed a "junk food" diet in pregnancy and lactation exhibited adiposity that is more pronounced in females. *J. Physiol.* **586**: 3219-3230.
- 33.** Huynh, M.; Luiken, J.J.J.P.; Coumans, W. y Bell, R.C., 2008. Dietary fructose during suckling period increases body weight and fatty acid uptake into skeletal muscle in adult rats. *Obesity* **16**: 1755-1762.
- 34.** Selenscig, D.; Rossi, A.; Chicco, A. y Lombardo, Y.B., 2010. Increased leptin storage with altered leptin secretion from adipocytes of rats with sucrose-induced dyslipidemia and insulin resistance: effect of dietary fish oil. *Metabolism.* **59**: 787-795.
- 35.** Lombardo, Y.B. y 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.
- 36.** Jump, D. B., Botolin, D.; Wang, Y.; Xu, J.; Christian, B. y Demeure, O., 2005. Fatty Acid Regulation of Hepatic Gene Transcription. *J. Nutr.* **135**: 2503-2506.