

Adición de mayonesa a la dieta de ratas

Sprague-Dawley incrementa la glicemia y los triacilglicéridos con disminución del HDL-colesterol

Aida Souki, María E. Vargas, José M. Gabarrón, Daniel Escalona, Miguel Aguirre, Mariana Matta, Johan Almarza, Emailú Barroso, Mayerlim Medina, Climaco Cano. Centro de Investigaciones Endocrino - Metabólicas "Dr. Félix Gómez", Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. fago@medscape.com

Recibido: 29/09/2006

Aceptado: 29/10/2006

Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del consumo de mayonesa, sobre algunos factores determinantes del riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV). Para ello se utilizaron 24 ratas macho Sprague-Dawley a las cuales se les suministró por un período de 5 semanas, ratarina mezclada con mayonesa ad libitum en proporción de 25%. Antes y después de recibir la dieta modificada se les determinó, previo ayuno de 12 horas, las concentraciones séricas de glucosa, colesterol total, colesterol de HDL, VLDL y LDL, y triacilglicéridos. Los resultados mostraron un incremento significativo en la glicemia basal ($101,3 \pm 3,9$ vs. $126,4 \pm 4,5$ mg/dl, $p < 0,0001$), triacilglicéridos ($49,9 \pm 3,4$ vs. $117,4 \pm 27,6$ mg/dl; $p < 0,02$) y colesterol de VLDL ($10,0 \pm 0,7$ vs. $23,5 \pm 5,5$ mg/dl; $p < 0,02$), y una disminución en la concentración de HDL-colesterol ($40,8 \pm 1,7$ vs. $35,8 \pm 1,0$ mg/dl; $p < 0,001$) sin cambios significativos en el colesterol total y LDL-colesterol. Podemos concluir que una ingesta elevada de aditivos alimenticios con alto contenido graso como la mayonesa, incrementa en las ratas los marcadores del riesgo de ECV lo cual llama a la reflexión por el efecto que dicho aditivo podría también tener en los humanos.

Palabras clave: mayonesa, ácido linoleico, glicemia, perfil lipídico, enfermedad cardiovascular.

Abstract

The aim of the present study was to investigate the effect of the addition of mayonnaise to diet on some risk factors for cardiovascular diseases (CVD). For this purpose, twenty four male Sprague-Dawley rats were fed ad libitum rat chow containing 25% mayonnaise for five weeks. Serum glucose, total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), very low-density lipoprotein cholesterol (VLDL-C) and triacylglycerides were determined at baseline and after the dietary intervention. Diet containing mayonnaise significantly increased serum glucose (from $101,3 \pm 3,9$ to $126,4 \pm 4,5$ mg/dl, $p < 0,0001$), triacylglycerides (from $49,9 \pm 3,4$ to $117,4 \pm 27,6$ mg/dl; $p < 0,02$) and VLDL-C (from $10,0 \pm 0,7$ to $23,5 \pm 5,5$ mg/dl; $p < 0,02$), and significantly reduced serum HDL-C (from $40,8 \pm 1,7$ to $35,8 \pm 1,0$ mg/dl; $p < 0,001$). Total cholesterol and LDL-C were unchanged when compared with baseline. The results suggest that the addition of mayonnaise to a daily dietary intake induced unfavorable changes on the CVD risk factors in normal rats, which make us reflect about the effect that food additives, such as mayonnaise can exhibit on human beings.

Key words: mayonnaise, linoleic acid, glycemia, lipid profile, cardiovascular disease.

Introducción

El principal problema de nutrición en los países industrializados, lo constituye el exceso, en virtud del cual la gran cantidad de calorías y grasas presentes en la dieta contribuyen a un aumento desproporcionado de la prevalencia de enfermedades metabólicas¹. Así, vemos que enfermedades relacionadas al estilo de vida, como las hiperlipidemias, aterosclerosis, diabetes mellitus e hipertensión están cada vez más generalizadas y contribuyen al incremento de la morbilidad y mortalidad por enfermedades cardiovasculares ECV².

Las ECV son consideradas claro ejemplo de patologías relacionadas con la dieta, siendo la ingesta de grasa total, particularmente la de tipo animal, colesterol y proteína animal, las prácticas alimentarias más asociadas al riesgo de ECV; mientras que la ingesta de grasa poli y monoinsaturada, fibra dietética y proteína vegetal, parecen disminuirlo³.

Son numerosos los estudios experimentales y epidemiológicos que han evaluado la asociación entre la ingesta de grasa dietética total y de diferentes tipos de grasa con los factores de riesgos para enfermedades cardíacas coronarias, algunos con resultados contradictorios. Dos estudios encontraron una asociación positiva entre la ingesta de grasa total y el riesgo de enfermedad cardíaca coronaria^{4,5}, sin embargo, otros cuatro no corroboran esta asociación^{6,7,8,9}.

Para Hu y col es el tipo de grasa y no la cantidad lo que constituyen un factor de riesgo⁸. Así, según varios estudios existe una asociación positiva entre ingesta de grasa saturada y riesgo de enfermedades cardíacas coronarias^{4,5}, lo cual no es comprobado por otros^{6,7,9}. Una relación inversa entre la ingesta de ácidos grasos monoinsaturados y riesgo de enfermedades cardíacas coronarias fue encontrada en un

estudio⁸, otro comprobó una asociación positiva⁴, y en otro no se determinó ninguna relación⁹. La ingesta de ácidos grasos poliinsaturados fue inversamente relacionada con el riesgo de enfermedades cardíacas coronarias en varios estudios^{8,10,11}, mientras que otros tres no encontraron asociación^{4,7,9}.

Un alto consumo de ácido α -linolénico está asociado con una baja incidencia de enfermedad arterial coronaria¹². También se le ha asociado con concentraciones bajas de triacilglicéridos¹³ no obstante la mayoría de los estudios epidemiológicos han fallado en demostrar este efecto en humanos^{14,15,16,17}. En contraposición, en un estudio de intervención dietética, el consumo de margarina rica en ácido α -linolénico, resultó en un incremento neto significativo en las concentraciones de triacilglicéridos, después de dos años de intervención. A la ingesta de ácido linoleico conjugado se le ha atribuido un efecto biológico potencialmente beneficioso en la inhibición de la carcinogénesis^{18,19} y en atenuar la aterosclerosis en modelos animales^{20,21}, sin embargo, otros estudios han sido inconsistentes en sus resultados²².

Debido a lo contradictorio de algunas de las investigaciones reportadas, y considerando la tendencia de la población hacia un consumo masivo y generalizado de aditivos alimenticios con alto contenido en grasa, el presente estudio se planteó como objetivo evaluar el efecto del consumo de mayonesa (rica en ácidos grasos poliinsaturados, principalmente ácido linoleico), sobre algunos factores determinantes del riesgo de ECV, utilizando ratas adultas Sprague-Dawley como modelo experimental.

Materiales y métodos

Se utilizaron 24 ratas machos Sprague-Dawley adultas (12 a 14 meses de edad), con peso promedio de $269,6 \pm 4,22$ g, obtenidas del Bioterio de la Facultad de Medicina, de La Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. Las mismas se mantuvieron en jaulas metálicas en ambientes a 25°C , y recibieron agua y alimento ad libitum.

Las ratas recibieron por un período de 5 semanas Ratarina (Purina) mezclada con mayonesa ad libitum, en una proporción del 25%, ambos productos disponibles comercialmente. La mayonesa comercial utilizada estaba constituida por aceite vegetal comestible, agua, clara y yema de huevo, almidón modificado, vinagre, azúcar, sal yodada, maltodextrina, jugo de limón, goma xantana, goma guar, 0.1% de ácido sórbico como conservador, ácido cítrico, ácido fosfórico, mostaza, saboradores artificiales, EDTA de calcio, especias y colorante natural (beta caroteno). De acuerdo a información suministrada por el fabricante la composición aproximada por cada 100 g de la mayonesa fue de 39 g de agua, 0,9 g de proteína, 23,9 g de carbohidratos, 33 g de lípidos totales. Este último estuvo representado aproximadamente por 18 g de ácidos grasos poliinsaturados (16 g de ácido linoleico y 2 g de ácido α linolénico), 9 g de ácidos monoinsaturados, 5g de ácidos saturados y 26 mg de colesterol.

Se obtuvieron los pesos y muestras de sangre de los animales antes de comenzar el tratamiento y al final del mismo. Las ratas fueron sometidas a ayuno de 12 horas, y obtenidas las muestras de sangre por punción intracardiaca, previa anestesia del animal con éter, las cuales fueron coaguladas y centrifugadas para separar el suero y realizar

las determinaciones de glicemia por el método de la glucosa oxidasa (SIGMA CHEMICAL, U.S.A.), colesterol total, colesterol de HDL y triacilglicéridos por métodos comerciales (Human Gesellschaft fur Biochemica und diagnostica mbH Germany). Para la determinación de colesterol de VLDL y LDL se aplicó la formula de Friedwald.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se expresaron como promedio \pm error estándar. El análisis estadístico se realizó aplicando la prueba "t" de student para pares, a fin de establecer comparaciones de los parámetros estudiados, antes y después del tratamiento, las diferencias se consideraron significativas con valores de $p < 0,05$.

Resultados

Después de 5 semanas consumo de alimento mezclado con mayonesa, las ratas registraron un incremento significativo del peso que se ubicó en el orden del 28% con respecto al que se registró antes de comenzar el tratamiento ($269,6 \pm 4,2$ vs. $383,8 \pm 8,1$; $p < 0,0001$). También al final del tratamiento se observó un incremento en la glicemia ($101,3 \pm 3,9$ vs. $126,4 \pm 4,5$ mg/dl, $p < 0,001$) (Figura 1). Al evaluar el efecto de la dieta sobre los lípidos séricos se pudo observar en las ratas, un incremento significativo $p < 0,02$ en los niveles séricos de triacilglicéridos ($49,9 \pm 3,4$ vs. $117,4 \pm 27,6$ mg/dl) (Figura 2), con un significativo descenso ($p < 0,001$) en los niveles séricos de HDL-colesterol ($40,8 \pm 1,7$ vs. $35,8 \pm 1,0$ mg/dl) y un incremento significativo $p < 0,02$ en los niveles séricos de VLDL-colesterol ($10,0 \pm 0,7$ vs. $23,5 \pm 5,5$ mg/dl) (Figura 3). No fueron observados cambios significativos en el colesterol total antes y después del tratamiento ($64,4 \pm 3,0$ vs. $62,0 \pm 2,3$ mg/dl) (Figura 4), ni en la concentración sérica de LDL-colesterol ($15,5 \pm 1,3$ vs. $14,5 \pm 2,0$ mg/dl) (Figura 3).

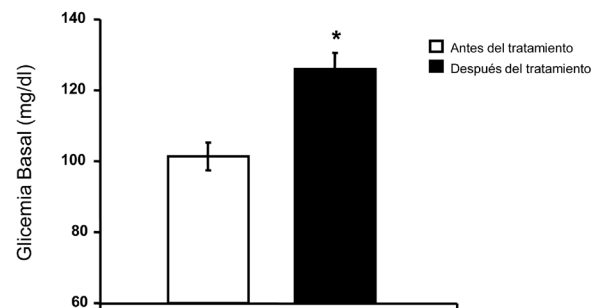


Figura 1. Efecto de una dieta con un contenido del 25% de mayonesa sobre la glicemia en ratas Sprague-Dawley. $n=24$. $*p < 0,0001$.

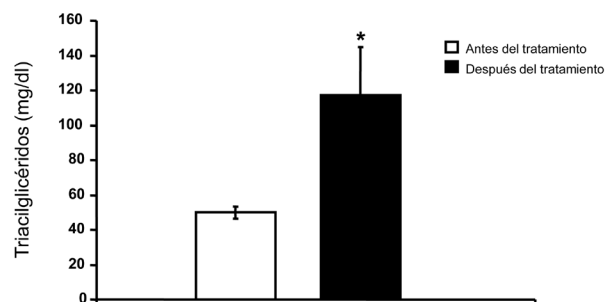


Figura 2. Efecto de una dieta con un contenido del 25% de mayonesa sobre los Triacilglicéridos séricos en ratas Sprague-Dawley. $n=24$. $*p < 0,02$

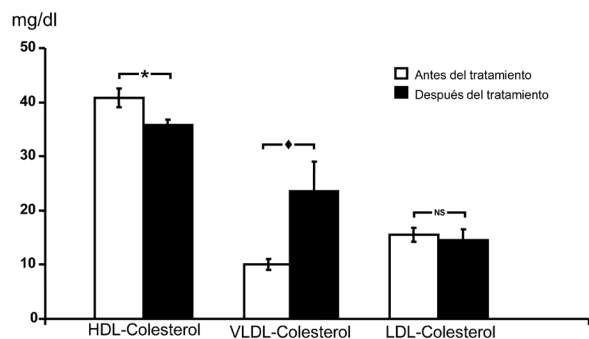


Figura 3. Efecto de una dieta con un contenido del 25% de mayonesa sobre el contenido de colesterol de las fracciones de lipoproteínas en ratas Sprague-Dawley. n=24. * $p < 0,001$. ♦ $p < 0,02$. NS= Diferencia no significativa

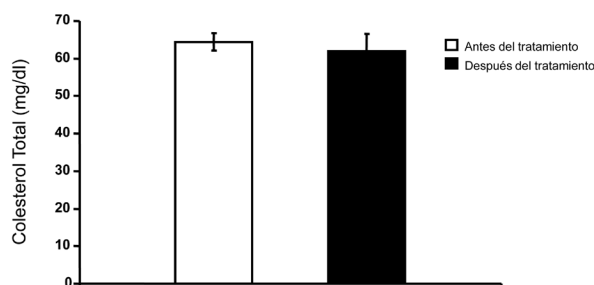


Figura 4. Efecto de una dieta con un contenido del 25% de mayonesa sobre el colesterol total en ratas Sprague-Dawley. n=24. No se observó diferencias significativas.

Discusión

Los resultados del presente estudio indican que las ratas alimentadas con mayonesa en una concentración de 25% en su alimentación por un período de 5 semanas, experimentaron un incremento significativo en los niveles séricos de triacilglicéridos, dicho efecto también fue observado por Howard y col²³ en un estudio realizado en humanos de diferentes razas, donde comparó el efecto de dietas que diferían en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados y monoinsaturados, resultando que todas se asociaron con un incremento en los triacilglicéridos totales, siendo menor el incremento en la dieta con mayor proporción de ácidos poliinsaturados y mayor el incremento en dietas más altas en ácidos monoinsaturados, sin observarse cambios en la concentración de las HDL-colesterol.

Esta elevación de los triacilglicéridos por efecto de la mayonesa, puede ser debida a una sobreproducción de quilomicrones ó VLDL, ó por aclaramiento más lento de estas partículas a través de la hidrólisis y remoción de triacilglicéridos, mediado por la enzima lipoprotein-lipasa. La acumulación de partículas remanentes parcialmente hidrolizadas puede también contribuir a la respuesta elevada de triacilglicéridos, debido a un escaso reconocimiento por los receptores hepáticos²⁴.

La consecuencia neta de estos defectos es la retención incrementada de lipoproteínas ricas en triacilglicéridos en la circulación, lo que provee una mayor oportunidad para intercambio de lípidos neutros catalizados por la proteína transferidora de ester de colesterol, la cual media la transferencia recíproca de triacilglicéridos y colesterol entre lipoproteínas ricas en triacilglicéridos y las HDL y LDL,

lo cual provoca una acumulación de triacilglicéridos en las HDL y LDL, y de colesterol en los Quilomicrones y VLDL y sus remanentes. Estas últimas partículas enriquecidas en colesterol presentan una captación reducida por la vía mediada por receptor²⁴.

Por otro lado, las HDL y LDL enriquecidas con TG se convierten en buenos sustratos para la enzima lipasa hepática, lo que resulta en la formación de HDL y LDL densas y pequeñas, HDL₃ y LDL₃ respectivamente, las cuales son catabolizadas rápidamente, resultando en niveles reducidos de HDL circulante²⁴, hallazgo que también fue evidenciado en las ratas, después del consumo de mayonesa por 5 semanas, cuyos niveles promedios de HDL-colesterol disminuyeron significativamente, frente a niveles elevados de triacilglicéridos. Así mismo, en otros estudios realizados en monos verdes africanos²⁵ y hamster²⁶ se pudo comprobar que niveles elevados en ácidos grasos poliinsaturados disminuyeron las concentraciones séricas de HDL-colesterol.

Es importante mencionar que un número considerable de estudios prospectivos indican que niveles elevados de triacilglicéridos^{27,28,29,30}, así como bajos niveles de HDL-colesterol³¹ son considerados factores de riesgo independientes para el desarrollo de enfermedad cardiaca coronaria, considerada la principal causa de muerte en Estados Unidos y Venezuela³², y en el presente estudio se evidencian con ambas alteraciones.

Se observó además, que la mayonesa provocó en las ratas tratadas, un incremento significativo en los niveles de glucosa ubicándose fuera de los valores considerados como normales, lo cual se ha evidenciado previamente en dos investigaciones realizadas en modelos animales; una en ratas Wistar³³ donde la dieta alta en grasa indujo hiperglicemia, concomitante con expresión reducida de la enzima glucocinasa, la cual compromete la función de las células β ; y otra donde la administración de dietas altas en grasa a ratones de la variedad C557Bl/6, disminuyó la expresión del transportador de glucosa Glut-2 en las células β pancreáticas, lo que estuvo asociado con hiperglicemia y pérdida de la secreción de insulina estimulada por glucosa³⁴ considerados estos como marcadores tempranos en la patogénesis de la diabetes y que preceden al desarrollo de la resistencia a la insulina³⁵.

El tratamiento con mayonesa también estuvo asociado a un incremento significativo en el peso de las ratas tratadas. Este hallazgo se corresponde con el estudio de Woods y col³⁶ realizado en ratas Long-Evans, donde la dieta alta en grasa estuvo asociada con un peso mayor, más grasa visceral, hiperinsulinemia, hiperglicemia, insulino-resistencia y un sistema apo A-IV hipotalámico regulado en baja, que podría haber contribuido a la hiperfagia.

En conclusión los resultados de la presente investigación sugieren que la ingesta elevada de aditivos alimenticios con alto contenido graso (principalmente poliinsaturados) como la mayonesa, incrementa en ratas los marcadores del riesgo de ECV, debido al aumento exagerado y en corto tiempo de los niveles séricos de triacilglicéridos y la disminución de HDL-colesterol, además de provocar un incremento en la glicemia y el peso corporal; lo cual llama a la reflexión por el efecto que este aditivo podría también tener en los humanos.

1. Ziegler EE, Filer LJ. *Conocimientos Actuales sobre Nutrición y Dietética*. 1997, Séptima Edición. Publicación Científica No 565. Organización Panamericana de la Salud.
2. Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Detz WH. The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA*. 1999; 282:1523-1529.
3. Ortega, R.M.; Andres, P.; Arzuola, M.; Encinas-Sotillo, A.; Gaspar, M.J. Parenteral death from cardiovascular disease and dietary habits in an elderly group. *Br J Nutr*. 1994; 18(2):259-270.
4. Esrey KL, Joseph L, Grover SA. Relationship between dietary intake and coronary heart disease mortality: Lipid Research Clinics Prevalence Follow-Up Study. *J Clin Epidemiol*. 1996; 49:211-16.
5. Boniface DR, Tefft ME. Dietary fats and 16-year coronary heart disease mortality in a cohort of men and women in Great Britain. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56:786-92.
6. Garcia-Palmieri MR, Sorlie P, Tillotson J, et al. Relationship of dietary intake to subsequent coronary heart disease incidence: the Puerto Rico Heart Health Program. *Am J Clin Nutr*. 1980; 33:1818-27.
7. Ascherio A, Rimm EB, Giovannucci EL, Spiegelman D, Stampfer M, Willett WC. Dietary fat and risk of coronary heart disease in men: cohort follow up study in the United States. *BMJ*. 1996; 313:84-90.
8. Hu FB, Stampfer MJ, Manson J, Rimm E, Colditz GA, Rosner BA, Hennekens CH, Willett WC. Dietary fat intake and the risk of Coronary Heart Disease in women. *N Engl J Med*. 1997; 337(21):1492-1499.
9. Pietinen P, Ascherio A, Korhonen P, Hartman AM, Willett WC, Albanes D, Virtamo J. Intake of fatty acids and risk of coronary heart disease in a cohort of Finnish men. The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Am J Epidemiol*. 1997; 145:876-87.
10. Jakobsen MU, Overvad K, Dyerberg J, Schroll M, Heitmann BL. Dietary Fat and Risk of Coronary Heart Disease: Possible Effect Modification by Gender and Age. *Am J Epidemiol*. 2004; 160:141-149.
11. Oh K, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Willett W. Dietary Fat Intake and Risk of Coronary Heart Disease in Women: 20 Years of Follow-up of the Nurses' Health Study. *American Journal of Epidemiology*. 2005; 161(7):672-679
12. de Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Guidollet J, Touboul P, Delaye J. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet*. 1994; 343:1454-9.
13. Singer P, Berger I, Wirth M, Godicke W, Jaeger W, Voigt S. Slow desaturation and elongation of linoleic and alpha-linolenic acids as a rationale of eicosapentaenoic acid-rich diet to lower blood pressure and serum lipids in normal, hypertensive and hyperlipemic subjects. *Prostaglandins Leukot Med*. 1986; 24:173-93
14. Layne KS, Goh YK, Jumpson JA, Ryan EA, Chow P, Clandinin MT. Normal subjects consuming physiologic levels of 18:3(n-3) and 20:5(n-3) from flaxseed or fish oils have characteristic differences in plasma lipid and lipoprotein fatty acid levels. *J Nutr*. 1996; 126:2130-40
15. Karvonen HM, Aro A, Tapola NS, Salminen I, Uusitupa MI, Sarkkinen ES. Effect of alpha-linolenic acid-rich *Camelina sativa* oil on serum fatty acid composition and serum lipids in hypercholesterolemic subjects. *Metabolism* 2002; 51:1253-60.
16. Li D, Sinclair A, Wilson A, et al. Effect of dietary α -linolenic acid on thrombotic risk factors in vegetarian men. *Am J Clin Nutr*. 1999; 69:872-82
17. Goh YK, Jumpson JA, Ryan EA, Clandinin MT. Effect of omega 3 fatty acid on plasma lipids, cholesterol and lipoprotein fatty acid content in NIDDM patients. *Diabetología*. 1997; 40:45-52
18. Ip C, Singh M, Thomson HJ, Scimeca JA. Conjugated linolenic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res*. 1994; 54:1212-1215.
19. Huth PJ, DiRienzo DB, Miller GD. Major scientific advances with dairy foods in nutrition and health. *J Dairy Sci*. 2006; 89(4):1207-1221.
20. Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW. Conjugated linolenic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*. 1994; 108:19-25.
21. Sato M, Shibata K, Nomura R, Kawamoto D, Nagamine R, Imaizumi K. Linoleic acid-rich fats reduce atherosclerosis development beyond its oxidative and inflammatory stress-increasing effect in apolipoprotein E-deficient mice in comparison with saturated fatty acid-rich fats. *Br J Nutr*. 2005; 94(6):896-901.
22. Tricon S, Yagoob P. Conjugated linolenic acid and human health: a critical evaluation of the evidence. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2006; 9(2):105-110.
23. Howard B, Hannah JS, Heiser CC, Jablonski KA, Paidi MC, Alarj L, Robbins DC, Howard WJ. Polyunsaturated fatty acids result in greater cholesterol lowering and less triacylglycerol elevation than do monounsaturated fatty acids in a dose-response comparison in a multiracial study group. *Am J Clin Nutr* 1995; 62:392-402.
24. Williams CM. Postprandial lipid metabolism: effects of dietary fatty acids. *Proceedings of Nutrition Society*. 1997; 56:679-692.
25. Rudell, L.L., Parks, J.S., Sawyer, J.K. Compared with dietary monounsaturated and saturated fat, polyunsaturated fat protects African green monkeys from coronary artery atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 1995; 15:2101-2110
26. Spady DK, Kearney DM, Hobbs HH. Polyunsaturated fatty acids up-regulate hepatic scavenger receptor B1 (SR-BI) expression and HDL cholesteryl ester uptake in the hamster. *The Journal of Lipid Research*. 1999; 40:1384-1394.
27. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk*. 1996; 3: 213-219
28. Iso H, Naito Y, Sato S, Kitamura A, Okamura T, Sankai T, Shimamoto T, Lida M, Komachi Y. Serum Triglycerides and Risk of Coronary Heart Disease among Japanese Men and Women. *American Journal of Epidemiology*. 2001; 153(5): 490-499.
29. Asia Pacific Cohort Studies Collaboration. Serum Triglycerides as a Risk Factor for Cardiovascular Diseases in the Asia-Pacific Region. *Circulation*. 2004; 110:2678-2686.
30. Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol*. 1998; 81(Suppl 4A):7B-12B.
31. Kitamura A, Iso H, Naito Y, Lida M, Konishi M, Folsom AR, Sato S, Kiyama M, Nakamura M, Sankai T, et al. High-density lipoprotein cholesterol and premature coronary heart disease in urban Japanese men. *Circulation*. 1994; 89: 2533-2539
32. Kepler O. Estudio Epidemiológico de la Hipertensión Arterial y otros factores de riesgo en el Estado Lara. *Federación Médica Venezolana*. 1993; 1(3-4): 105-115.
33. Cerf ME, Muller CJ, Du Toit DF, Louw J, Wolfe-Coote SA. Hyperglycaemia and reduced glucokinase expression in weanling offspring from dams maintained on a high-fat diet. *Br J Nutr*. 2006; 95(2):391-396.
34. Ohtsubo k, Takamatsu S, Minowa MT, Yoshida A, Takeuchi M, Marth JD. Dietary and genetic control of glucose transporter 2 glycosylation promotes insulin secretion in suppressing diabetes. *Cell*. Vol. 2005; 123:1307-1321.
35. Del Guerra S, Lupi R, Marselli L, Masini M, Bugliani M, Sbrana S, Torri S, Pollera M, Boggi U, Mosca F, Del Prato S, Marchetti P. Functional and molecular defects of pancreatic islets in human type 2 diabetes. *Diabetes*. 2005; 54:727-735.
36. Woods SC, D'Alessio DA, Tso P, Rushing PA, Clegg DJ, Benoit SC, Gotoh K, Liu M, Seeley R. Consumption of a high-fat diet alters the homeostatic regulation of energy balance. *Physiology & Behavior*. 2004; 83(4):573-578.