

104



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EFECTO DE LA BIOTINA SOBRE LA GLICEMIA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G A
P R E S E N T A:
J U D I T H J I M E N E Z



296538

DIRECTOR: DRA. CRISTINA FERNANDEZ MEJIA



MEXICO, D.F.

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION DE CIENCIAS

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"EFECTO DE LA BIOTINA SOBRE LA GLICEMIA"

realizado por *JUDITH JIMENEZ*

con número de cuenta *8939125-9* , pasante de la carrera de *BIOLOGIA*

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis Propietario *DRA. MARIA CRISTINA REGINA FERNANDEZ MEJIA*

Propietario *DRA. MARIA EUGENIA GONSEBATT BONAPARTE*

Propietario *DRA. MARIA CRISTINA REVILLA MONSALVE*

Suplente *DR. ADOLFO ANDRADE CETTO*

Suplente *DRA. LIDIA SUMIKO MORIMOTO MARTINEZ*

Consejo Departamental de *BIOLOGIA*

DRA. PATRICIA RAMOS MORALES

FACULTAD DE CIENCIAS
U. N. A. M.



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

AGRADECIMIENTOS

A la directora de tesis:

Dra. Cristina Fernández Mejía

Por su invaluable apoyo y dedicación en la realización de esta tesis.

A los sinodales:

Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte

Dra. María Cristina Revilla Monsalve

Dr. Adolfo Andrade Cetto

Dra. Lidia Sumiko Morimoto Martínez

Por sus valiosos comentarios y consejos en la revisión y corrección de esta tesis.

A mis compañeros de trabajo de la Unidad de Genética de la Nutrición, Alberto, Paty, Manolo, Elvira, Alonso por su amistad y sentido del humor y en especial a Ethel por su invaluable amistad, su excelente sentido del humor y por compartir momentos difíciles, a Zazil e Isabel por su amistad y consejo en el momento apropiado.

DEDICATORIAS

A mi madre que fue la persona que me formo y que gracias a su apoyo y comprensión se termino este trabajo.

A mis hermanos Sara y César por su apoyo.

A mis amigos del primer laboratorio en donde comencé mi formación académica en especial a Lupita, Yolanda y Blanca por tenerlas como ejemplos dignos de perseverancia, amistad y por sus valiosos consejos.

ÍNDICE

Introducción.....	3
Diabetes.....	3
Complicaciones	4
Agudas	4
Crónicas	5
Páncreas y diabetes.....	6
Insulina	7
Estructura	8
Mecanismo de secreción de la insulina	9
Mecanismo de acción de la insulina.....	10
Diabetes experimental	11
Modelos animales de diabetes experimental	12
Inducción de diabetes por glucocorticoides en un modelo animal ..	12
Glucocorticoides	13
Fisiología de la glándula suprarrenal	13
Efecto de los glucocorticoides sobre el metabolismo de carbohidratos	15
Efecto de glucocorticoides sobre el metabolismo de proteínas	15
Efecto de glucocorticoides sobre el metabolismo de grasas	16
Mecanismo de acción de los glucocorticoides	16
Agonistas de glucocorticoides	17
Inducción química	17
Aloxana	17
Estreptozotocina.....	18
Dexametasona	19
Biotina	20
Absorción, transporte y distribución de la biotina	22
Actividad de la biotina sobre el metabolismo	23
Efecto de la biotina sobre la expresión génica	25

Efecto de la biotina sobre el metabolismo de los carbohidratos	27
Efecto de la deficiencia de biotina sobre el metabolismo de carbohidratos	27
Efecto de la deficiencia de biotina sobre la glucemia	27
Efecto de la deficiencia de biotina sobre el hígado	27
Efecto de la deficiencia sobre el páncreas	28
Efectos de la biotina sobre el metabolismo de carbohidratos en modelos diabéticos	28
Efectos sobre la hiperglucemia	28
Efectos sobre el hígado de animales diabéticos	30
Efectos sobre el páncreas de animales diabéticos	30
Efectos sobre el tejido periférico de animales diabéticos	30
Otros efectos de la biotina	31
Hipótesis	32
Objetivo principal	32
Objetivos particulares	32
Material y métodos	33
Animales experimentales	33
Obtención	33
Modelo experimental	33
Curva de tolerancia	34
Análisis de la concentración de glucosa	35
Análisis de la concentración sérica de insulina	35
Estadística	35
Resultados	36
Discusión	44
Conclusiones	47
Bibliografía	48

INTRODUCCIÓN.

DIABETES.

La diabetes es un padecimiento de gran incidencia en la población mundial que aumenta en proporciones alarmantes. Su existencia se conoce desde el siglo XV antes de la era cristiana (Fernández, 1986).

El concepto actual sobre la diabetes nos señala que la enfermedad, más que ser un desorden, es un síndrome caracterizado por hiperglucemia crónica, existiendo al menos cuatro grandes tipos de la enfermedad. El tipo más frecuente en la población mundial, es la diabetes de la edad adulta también llamada diabetes de tipo 2. En la mayoría de los casos este tipo de diabetes involucra un estado prediabético caracterizado por hiperinsulinemia asociado con una incapacidad del músculo y del tejido adiposo de incorporar al interior de sus células a la glucosa en respuesta a las concentraciones normales de insulina, a este fenómeno se le conoce como resistencia a la insulina; por otro lado la diabetes mellitus no solamente es el agotamiento de la célula beta ya que en etapas tempranas hay hiperglucemia (Fernández, 1996).

En términos más concretos la Diabetes mellitus (DM) es una enfermedad que produce alteraciones del metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas; cuando la enfermedad alcanza pleno desarrollo, se caracteriza por hiperglucemia en ayunas y, en la mayoría de pacientes con larga evolución de la enfermedad, se presentan complicaciones microangiopáticas, en especial renales y oculares, así como macroangiopatía con afección de arterias coronarias, enfermedad vascular periférica y neuropatía (Brownlee et al. 1981, Islas et al. 1999).

La herencia, desempeña un papel principal para determinar quién padecerá diabetes y quién no. A veces, actúa incrementando la susceptibilidad de las células beta a los virus o favoreciendo el desarrollo de anticuerpos autoinmunes contra las células beta causando su destrucción. En otras circunstancias parece

haber una tendencia hereditaria a la degeneración de las células beta (Guyton, 1994)

La obesidad también juega un papel en el desarrollo de la diabetes. Debido a que las células beta de los islotes de Langerhans responden menos al incremento de la glucemia en la obesidad; por lo tanto, los niveles de insulina en sangre no se incrementan cuando es necesario. Otra razón es que la obesidad reduce el número de receptores insulínicos en las células efectoras de todo el cuerpo y así la cantidad de insulina disponible es menos eficaz para manifestar sus efectos metabólicos (Guyton, 1994).

La pérdida de glucosa por la orina causa diuresis, que significa disminución de cantidades excesivas de agua por la orina, debida al efecto osmótico de la glucosa en los túbulos renales que evitan la resorción tubular del agua (Guyton, 1994).

Sin tratamiento o con un control glucémico insuficiente, la diabetes provoca complicaciones agudas que pueden ser mortales. Sin embargo, incluso con un control razonablemente bueno de la glucosa plasmática, al cabo de los años la mayoría de los diabéticos padecen complicaciones crónicas de la enfermedad con el resultado de lesión tisular, sobre todo en los sistemas cardiovascular y nervioso (Rhoades, 1997).

Complicaciones agudas.

Dentro de las complicaciones agudas se encuentran principalmente la cetoacidosis diabética (CAD) y el síndrome hiperosmolar no cetónico, con menos frecuencia se presenta la hipogluceemia y la acidosis láctica (Castro, 1999).

La CAD provoca hipergluceemia debido a la ausencia casi absoluta de insulina como el incremento de la producción de glucosa por el hígado vía gluconeogénesis y la glucogenólisis (Castro et al. 1999, Cullen et al. 1996, Hagay, 1994). Durante la CAD también se producen hipercetonemia, acidosis metabólica y alteraciones hidroelectrolíticas (Castro, 1999). Por lo general se presenta en los pacientes con diabetes tipo1 de recién diagnóstico o sin control adecuado. Cuando

se presenta en pacientes con diabetes tipo 2, se requieren factores que lo desencadenen como infecciones, infartos, traumatismos, estrés, hipertiroidismo, fenocromocitoma o la ingestión de medicamentos como esteroides, agonistas adrenérgicos entre otros (Castro et al. 1999, Cullen et al. 1996, Hagay, 1994).

Durante la cetoacidosis se producen cuerpos cetónicos de una manera similar a los que se forman durante el ayuno prolongado en pacientes sanos. La cetogénesis se puede atribuir a la deficiencia de insulina, que tiene un efecto anticatabólico para la inhibición de la cetogénesis, glucogenólisis, lipólisis y gluconeogénesis; este efecto se consigue con bajas concentraciones de insulina, por lo que debido a que la deficiencia de insulina en diabéticos es más pronunciada, la hiperketonemia es mucho más severa.

La cetoacidosis diabética debe considerarse como un estado en el que el organismo utiliza todas sus defensas para proteger al cerebro del daño que puede provocar hipoglucemia (Hagay, 1994, Chauhan et al. 1996).

El síndrome hiperosmolar no cetogénico o hiperglucemia no cetogénica o hipertonicidad no cetogénica es otra de las complicaciones agudas que se presentan con mayor frecuencia en diabéticos (Castro y Liceaga, 1999).

Los factores desencadenantes de esta afección pueden ser entre otros, la supresión inadecuada de hipoglucemiantes orales, infecciones concomitantes, enfermedades concurrentes como infarto al miocardio, accidente cerebral vascular, cirugías, etc. (Castro y Liceaga, 1999). Independientemente del factor desencadenante, la causa directa de este síndrome, es la hiperosmolaridad extracelular, que se produce por la deshidratación causada por la diuresis osmótica debida al aumento importante y constante de los niveles de glucosa (Castro y Liceaga, 1999).

Complicaciones crónicas.

Los tratamientos para el control de la DM no impiden la manifestación de complicaciones crónicas que afecten entre otros a ojos, riñones, nervios y arterias (Brownlee y Cerami, 1981, Islas, 1999) en pacientes descontrolados.

En los pacientes diabéticos la ceguera es una afección producida por el daño capilar a la retina que desencadena edema, neo-formación de vasos y hemorragias (Brownlee y Cerami, 1981, Islas, 1999).

Alteraciones crónicas a nivel capilar producen adelgazamiento de la membrana basal glomerular, lo que se refleja en un daño renal crónico con proteinuria que es 17 veces más común en los pacientes diabéticos. En el sistema nervioso periférico de los pacientes diabéticos se puede producir la desmielinización por segmentos, lo que se asocia con una alta incidencia de disfunciones motoras, sensoriales y autonómicas entre las que se incluyen la impotencia que afecta al 40% de los pacientes masculinos.

Dentro de las complicaciones crónicas presentes con mayor frecuencia entre los pacientes diabéticos están la enfermedad coronaria arterial, los infartos y la enfermedad arterial periférica. La mortalidad por enfermedad coronaria de los pacientes diabéticos es de 2 a 4 veces más que en los no diabéticos (Brownlee y Cerami, 1981, Islas, 1999). La gangrena que lleva a amputación es por lo menos 5 veces más frecuente en los diabéticos. La expectativa de vida de los diabéticos en promedio, es de tan sólo 2 terceras partes que el de la población general (Brownlee y Cerami, 1981, Islas, 1999).

Páncreas y diabetes.

El nombre páncreas deriva de las raíces griegas "pan" que significa todo y "creas" que significa carne.

En humanos el páncreas es un órgano de 70-150g de peso y 15-25 cm de longitud. Está conectado al duodeno por la ampolla de Water, en donde el conducto pancreático principal se une con el conducto biliar común.

Los términos cabeza, cuello, cuerpo y cola son utilizados para designar las regiones del órgano de proximal a distal. En los roedores la forma del páncreas es menos definida que en humanos (Slack, 1995).

El páncreas es un órgano muy importante para la digestión y la homeostasis de la glucosa en organismos superiores. Alteraciones de la función

del páncreas provocan diferentes enfermedades debilitantes tales como: diabetes, pancreatitis y cáncer de páncreas (St- Onge et al. 1999).

El páncreas posee una función tanto endocrina como exocrina. Endocrinamente libera enzimas al tracto digestivo, mientras que exócrinamente se secretan diferentes hormonas la torrente sanguíneo para coordinar y regular el uso de la glucosa (Slack, 1995, St- Onge et al. 1999).

El páncreas exócrino es una glándula acinar lobulada y ramificada en la que las células secretoras están agrupadas dentro de acinos. Son de forma piramidal con núcleos basales; presentan un arreglo regular de retículo endoplásmico rugoso, un aparato de Golgi prominente y numerosos gránulos que contienen enzimas digestivas en forma zimogénica (Ham y Cormack, 1983).

Las células endocrinas están agrupadas dentro de los islotes de Langerhans, que son pequeños grupos celulares esferoidales compactos embebidos en el tejido exocrino. Existen cuatro tipos principales de células endocrinas. Las α que secretan glucagon, las β que secretan insulina y también un antagonista de la insulina denominado amilina, y constituyen la mayoría de las células en el islote, las δ que secretan somastostatina y las PP que secretan polipéptido pancreático.

Todos los tipos celulares del islote además de sus hormonas específicas expresan un número de productos génicos característicos de células neuroendocrinas tales como la enolasa neurona-específica, receptor a la toxina del tétanos, antígeno A2b5 y la proteína de homeodominio LIM islet-1(Pickup y Goseth, 1997).

Insulina.

La insulina es una proteína dimérica unida por puentes bisulfuro, es sintetizada como un precursor de cadena simple primero pierde el péptido señal, y pierde un segmento conocido como péptido C, antes de llegar a ser la molécula hormonal madura. La insulina madura es almacenada en gránulos secretores cuya liberación es controlada por el nivel de glucosa en sangre.

Los efectos de la insulina sobre sus tejidos blanco, son metabólicos, promueven la captación de glucosa e inducen la mitosis (Pickup y Goseth, 1997) Esta actúa vía un receptor tipo tirosin cinasa que tiene un mayor blanco intracelular, una proteína denominada sustrato 1 del receptor de insulina. Este puede ser un intermediario en la estimulación de Ip3 cinasa y la ruta de las MAP-cinasas (Pickup y Goseth, 1997).

Estructura.

La estructura de la insulina y los genes que la codifican se han conservado a través de la evolución, reflejando su importancia en la regulación del metabolismo. En humanos, el gene que codifica la pre-pro-insulina, el último precursor de la insulina, esta localizado en el brazo corto del cromosoma 11 (en estrecha relación al IGF-2), tiene una longitud de 1355 pares de bases y su región codificante consiste de tres exones; el primero codifica el péptido señal en el N-terminal de la pre-pro-insulina, el segundo la cadena de B y parte del péptido C y el tercero el resto del péptido C y la cadena A (Pickup y Goseth, 1997).

La transcripción y el splicing remueven los intrones y producen un mensajero de 600 nucleótidos cuya traducción da lugar a la pre-pro-insulina que es un polipéptido de 11.5 kDa que se descarga al retículo endoplásmico rugoso, donde enzimas proteolíticas inmediatamente segmentan la pre-pro-insulina en pro-insulina, removiendo el péptido señal (Pickup y Goseth, 1997).

La pro-insulina es un péptido de 9 kDa que contiene la cadena A y B de la insulina (de 21 y 30 residuos de aminoácidos (aa) respectivamente) unida por el péptido C (30-35 aa). La conformación estructural de la pro-insulina y la insulina son muy similares y la función principal del péptido C es la de alinear los puentes bisulfuro que unen las cadenas A y B; de este modo la molécula es plegada (Pickup y Goseth, 1997).

La pro-insulina es transportada por microvesículas al aparato de Golgi donde es empaquetada en vesículas limitadas por membranas que contienen una bomba de protones dependiente de ATP (Pickup y Goseth, 1997, Lang, 1999).

La conversión de pro-insulina en insulina es iniciada en Golgi y continúa dentro de los gránulos secretores maduros por la acción secuencial de las endopeptidasas (pro-hormona convertasas 2 y 3) y la carboxipeptidasa H. Estas enzimas aseguran una rápida segmentación en sitios específicos, previniendo una fragmentación posterior de la insulina; actúan juntas para remover la cadena del péptido C, liberando dos dipéptidos segmentados formando finalmente la insulina (Pickup y Goseth, 1997, Lang, 1999).

La insulina tiene baja solubilidad y coprecipita con iones de zinc para formar microcristales dentro de los gránulos secretores. La precipitación también es facilitada por un bajo pH dentro del gránulo, el cual es creado por la escisión y pérdida de los aminoácidos básicos durante la conversión proteolítica (Pickup y Goseth, 1997, Lang, 1999).

La insulina y el péptido C son almacenados juntos en los sacos granulares y son finalmente liberados en concentraciones equimolares; bajo condiciones normales, 95% del producto hormonal es secretado como insulina y menos del 5% como pro-insulina no convertida (Pickup y Goseth, 1997, Lang, 1999).

MECANISMO DE SECRECIÓN DE LA INSULINA.

La secreción de insulina ocurre de manera basal y estimulada. La basal tiene una duración de 9 a 14 minutos y su periodicidad es inherente a la célula beta posiblemente modulada por mecanismos neurales. Estímulos hormonales intra islote y otros secretagogos pueden afectar la secreción estimulada de insulina (Fernández, 1996).

La secreción de insulina en respuesta a la glucosa se efectúa a las concentraciones post-prandiales de glucosa. La primera etapa en la serie de mecanismos bioquímicos involucrados en la secreción está dada por la entrada de glucosa a la célula beta. Ésta se efectúa a través del transportador de glucosa GLUT2, cuya alta K_m por la glucosa (15-20mM) le permite la entrada al azúcar en un amplio rango de concentraciones plasmáticas. Una vez dentro de la célula la glucosa requiere ser catabolizada. El primer paso del catabolismo de la glucosa a

concentraciones secretagogas está dado por la enzima glucocinasa, la cual fosforila a la glucosa para la formación de glucosa-6-fosfato.

La glucosa-6-fosfato continua su catabolismo a través de la vía glucolítica y posteriormente su oxidación en la mitocondria. En este proceso se generan una serie de segundos mensajeros, los cuales desencadenan los eventos requeridos para la despolarización y la secreción de la insulina. Posiblemente el mecanismo mejor conocido es el aumento de la relación ATP/ADP, este aumento produce el cierre de los canales de potasio sensibles a ATP, ocasionándose con esto una despolarización de la membrana plasmática, que permite el cierre de los canales de calcio y con ello la entrada de este ión. El incremento de calcio en el citosol activa a la calmodulina, la cual activa a dos proteínas cinasas las cuales producen la fosforilación de miosina y tubulina, quienes a su vez favorecen el movimiento y fusión con la membrana plasmática de los gránulos de insulina (Fernández, 1996).

MECANISMO DE ACCIÓN DE LA INSULINA.

El paso inicial de sus acciones biológicas requiere de la unión con su receptor membranal. El receptor de insulina es una glicoproteína tetrámera, constituida por dos unidades denominadas alfa localizadas en la parte externa de la membrana, a las cuales se une la insulina, y dos subunidades beta que penetran la membrana plasmática y que poseen actividad catalítica de tirosina cinasa. La unión de la insulina con las subunidades alfa desencadena una serie de autofosforilaciones de las porciones intracelulares de las cadenas beta. Estas autofosforilaciones desencadenan a su vez una cascada de fosforilaciones de tirosina y serina de diversas proteínas citoplasmáticas, estas fosforilaciones traducen en acciones rápidas la señal de la insulina. En 1991 fue identificada una proteína citoplasmática, denominada IRS-1 (Insulin Receptor Substrate), esta proteína es capaz de ser fosforilada rápidamente en presencia de insulina y juega un papel importante en los pasos iniciales de las señales citoplasmáticas de la insulina. La proteína IRS-1 fosforilada se une fuertemente a la enzima fosfo-

inositol 3' cinasa, produciendo la activación de ésta y la fosforilación del inositol, de fosfolípidos unidos a membrana. Los fosfoinositoles producidos por esta enzima difieren de los fosfoinositoles clásicos involucrados en la vía de la fosfolipasa C en que estos últimos se encuentran libres. Un ejemplo del efecto de la insulina mediado por esta cascada de fosforilaciones es su acción estimulante sobre la síntesis de glucógeno y su efecto inhibitor sobre la degradación del mismo. Una de las funciones más importantes de la insulina en el control de la glucemia es su acción estimulante en la captación de glucosa de tejidos periféricos, de hecho uno de los primeros eventos en la patogénesis de la diabetes de tipo 2 es la resistencia del tejido adiposo y del músculo para incorporar glucosa aún en presencia de grandes cantidades de insulina (Fernández, 1996).

Diabetes Experimental.

La diabetes puede producirse experimentalmente a través de cirugía, infección viral y la administración de hormonas o de agentes químicos (Mordes et al. 1981, Kalter, 1996).

Los primeros intentos de inducir la diabetes experimental se realizaron por técnicas quirúrgicas en perros por pancreatectomía parcial o total (Mordes et al. 1981).

Posteriormente mediante la lesión selectiva de las células del núcleo ventromedial del hipotálamo de ratas se logró que desarrollaran una diabetes semejante a la tipo 2, caracterizada por obesidad, hiperglucemia, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina (Mordes et al. 1981).

Otro mecanismo para inducir diabetes es vía la administración de diversos agentes químicos que puede ser de tres tipos: aquellos que destruyen las células beta del páncreas y producen un efecto citotóxico irreversible; los que actúan sobre las células beta del páncreas produciendo un efecto citotóxico reversible; y los que aumenta los requerimientos endógenos de insulina, produciendo un estrés oxidativo al páncreas y secundariamente diabetes (Mordes, 1981, Kalter, 1996).

Modelos animales de diabetes experimental.

En la actualidad el avance de la manipulación genética ha permitido establecer modelos animales que presentan diabetes en forma espontánea (McIntosh y Pederson, 1999, Leiter et al. 1999, Field y Butler, 1999). Estos modelos y el tipo de diabetes que presentan se resumen en el siguiente cuadro:

Modelo Biológico	Características	Tipo de diabetes
Ratón Nod	Derivado del ratón albino de la cepa Jcl: ICR.	Tipo 1
Rata Bio-Breeder	Derivada de la cepa Wistar, presenta diabetes cetogénica sin obesidad.	Tipo 1
Ratón ob/ob	Mutación de obesidad de la cepa C57BL/6J.	Tipo2
Ratón db/db	Mutación para diabetes del ratón ob/ob.	Tipo2
Ratón KK	Derivado de la cepa kasukabe, presenta diabetes moderada.	Tipo 2
Ratón NZO	Ratón obeso de Nueva Zelanda.	Tipo 2
Rata obesa Zucker	No presenta hiperglucemia pero si resistencia a la insulina .	Tipo 2
Fafa/Zucker	Presenta hiperglucemia, obesidad y resistencia a la insulina.	Tipo2

Inducción de diabetes tipo 2 por glucocorticoides en un modelo animal.

De acuerdo con (Batell et al. 1999, Ogawa et al 1992) la administración durante 5 días con dexametasona (5mg/Kg peso, i.p.), produce un modelo de resistencia a la insulina en 75-84% de las ratas sometidas a este tratamiento, en tanto que el 16-25% de ellas espontáneamente desarrolla Diabetes tipo 2. El tratamiento de ratas con este glucococorticoide produce anomalías en el

metabolismo de los carbohidratos similares a las que acontecen en la historia natural de la Diabetes tipo 2 a través de una resistencia a la insulina. En este modelo se produce una respuesta disminuida a la insulina en el transporte de glucosa y en la síntesis de glucógeno (Dimitriadis et al 1997, Okamura 1998, Corderre 1996, Venkatesen 1996), un aumento en la gluconeogénesis hepática (Stojanovska et al 1990, Okamura et al. 1998), e hiperinsulinemia compensatoria (Owaga et al 1992, Pieber et al 1993, Novelli et al. 1999). Este modelo ha sido utilizado en diversos estudios farmacológicos para evaluar el efecto de hipoglucemiantes orales (Okamura et al. 1998, Weinstein et al 1993) y permite la inducción de diferentes grados de intolerancia a la glucosa incluyendo Diabetes tipo 2 (Battel et al. 1999, Okamura et al. 1998, Owaga et al. 1992).

GLUCOCORTICOIDES

Los corticoesteroides son hormonas esteroideas derivadas del colesterol. Están formados por los mineralocorticoides que regulan la función renal, y los glucocorticoides, que tienen acciones generalizadas, incluyendo la movilización de aminoácidos, glucosa y acciones antiinflamatorias (Rann, 1989).

Fisiología de la glándula suprarrenal.

La glándula suprarrenal, está situada en la parte superior del riñón, está compuesta por dos tejidos funcional y embriológicamente no relacionados (una corteza exterior y una médula interior.) Las células de la corteza suprarrenal son estimuladas por la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) para sintetizar y secretar una familia de esteroides derivados del colesterol. Estos están formados por los mineralocorticoides que regulan la función renal, y los glucocorticoides, que tienen acciones generalizadas, incluyendo la movilización de aminoácidos, glucosa y actividad antiinflamatoria. El nivel basal de la secreción de los glucocorticoides se mantiene mediante su acción de retroalimentación sobre las neuronas hipotalámicas secretoras de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y sobre

la adenohipófisis. El nivel basal de glucocorticoides está sometido a un ritmo diario, resultado de la variación cíclica de CRH, que parece estar controlada por un reloj biológico endógeno. Los niveles basales, en el hombre, son máximos en las primeras horas de la mañana antes de despertar (Eckert, 1990).

Por otro lado la corteza suprarrenal es estimulada para liberar glucocorticoides en respuesta a distintos tipos de estrés (incluido el ayuno.). El estrés actúa a través del sistema nervioso, provocando una elevación en la ACTH de ahí la estimulación de la corteza suprarrenal (Eckert, 1990).

Los glucocorticoides son agentes que aceleran la degradación proteínica e inhiben la captación de aminoácidos y la síntesis de proteínas en tejidos extrahepáticos. Estos actúan sobre el hígado incrementando la síntesis de enzimas que favorecen la gluconeogénesis. La glucosa producida “de novo” es liberada a la circulación, causando un incremento en los niveles de glucosa sanguínea (Eckert, 1990). Los glucocorticoides también reducen la captación de glucosa por tejidos periféricos tales como el músculo (Eckert, 1990). Otra acción de los glucocorticoides es la movilización de ácidos grasos desde los depósitos de grasa en el tejido adiposo, esto tiene efecto en el incremento de sustratos aprovechables para la gluconeogénesis en el hígado (Eckert, 1990). Todas estas acciones tienden a producir hiperglucemia (es decir, incremento de los niveles de glucosa sanguínea). Los glucocorticoides poseen diferentes efectos sistémicos entre los que se encuentran efectos antiinflamatorios, producción de tejido conjuntivo y formación de hueso. Por otro lado los glucocorticoides incrementan la excreción urinaria de calcio y sodio, aumentan el gasto cardíaco e incrementan el tono vascular periférico (Greenspan, 1995).

Efecto de los glucocorticoides sobre el metabolismo de carbohidratos.

Los glucocorticoides disminuyen el transporte de glucosa en el músculo esquelético por inhibición de la traslocación de los transportadores 4 de glucosa (GLUT4) en la membrana plasmática en respuesta a insulina, efecto conocido como resistencia periférica a la insulina. La sensibilidad a la insulina en la síntesis

de glucógeno y la oxidación aeróbica de glucosa está disminuida, pero la actividad de la hexocinasa, la glucólisis y la formación de lactato no se ven afectada (Dimitradis et al, 1997).

Por otro lado los glucocorticoides aumentan la gluconeogénesis enzimática al estimular las enzimas glucogeneogénicas, fosfoenolpiruvato carboxicinasa y glucosa-6-fosfatasa (Greenspan and Baxter, 1995). También tienen un efecto favorable al incrementar la respuesta hepática de las hormonas gluconeogénicas (glucagón, catecolamina) y aumenta la liberación de sustratos de tejidos periféricos, principalmente del músculo (Greenspan and Baxter, 1995). Por otro lado todas las enzimas que se requieren para convertir aminoácidos en glucosa se incrementan en las células hepáticas. Esto es resultado de la activación de la transcripción de DNA en el núcleo de las células hepáticas causadas por los glucocorticoides (Guyton, 1994).

Efecto de glucocorticoides sobre proteínas.

Uno de los principales efectos de los glucocorticoides sobre los sistemas metabólicos del cuerpo es la disminución de las reservas de proteína en prácticamente todas las células excepto en las hepáticas. Esta reducción se debe tanto a la disminución de la síntesis de proteínas como al aumento del catabolismo de las presentes en la célula. Por otro lado deprime la síntesis de RNA en muchos tejidos fuera del hígado, incluyendo, sobre todo, músculo y tejido linfoide (Guyton, 1994).

Efecto de glucocorticoides sobre el metabolismo de grasas.

Los glucocorticoides también movilizan ácidos grasos del tejido adiposo y por ello, incrementa la concentración de ácidos grasos libres en plasma, que también eleva su consumo como energéticos. Así mismo los glucocorticoides aumentan moderadamente la oxidación de ácidos grasos en la célula, quizá como

resultado secundario de la menor disponibilidad de productos glucolíticos para el metabolismo (Guyton, 1994).

Los triglicéridos se disocian, por lo que aumenta en sangre el nivel de ácidos grasos. Por la reducción de la absorción de glucosa en las células adiposas se forman menos triglicéridos, reduciéndose con ello la formación del tipo de grasas que se almacenan (Schmidt, 1993).

Mecanismo de acción de glucocorticoides

Como se observa en la figura 1 los efectos biológicos de los glucocorticoides (cortisol y sus análogos naturales y sintéticos) se producen en las células blanco luego de la interacción del esteroide con un receptor de glucocorticoide específico (GR.) Los GR son reconocidos ahora como miembros de la super familia de proteínas fijadoras al DNA que responden a ligandos y que tienen una estructura de zinc que les permite interactuar con el genoma. Esta familia también incluye a los mineralocorticoides, a la hormona tiroidea (c-erb-A), 1,25.dihidroxi-vitamina D₃, al ácido retinoico, a los estrógenos, a la progesterona y a los receptores androgénicos (Smith and Reynard, 1993) A diferencia de los receptores nucleares, la progesterona, la hormona tiroidea y los andrógenos, los GR están localizados en el citoplasma y luego de unirse a los glucocorticoides, el complejo migra hacia el núcleo. El dominio fijador del esteroide está localizado en el extremo del C-terminal del receptor, separado de los dominios más céntricamente localizados a la fijación del DNA. La ocupación de los sitios de fijación esteroide por el cortisol o la dexametasona tienen efectos alostéricos sobre la proteína del receptor que posibilita su interacción con los elementos que responden a glucocorticoides específicos (GRE) en el DNA nuclear.

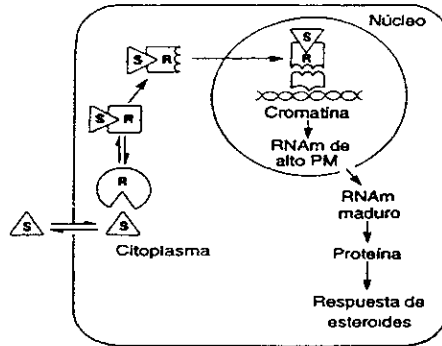


Figura 1. Mecanismo de acción de glucocorticoides.

Agonistas de glucocorticoides.

Los glucocorticoides sintéticos tienen afinidad sustancialmente mayor por el receptor de glucocorticoides, y éstos tienen actividad significativa de glucocorticoide que el cortisol cuando se presenta en concentraciones equimolares.

Inducción Química.

Aloxana

La Aloxana (AL) fue el primer agente químico diabético descubierta por Dunn y Mc Letchie, en estudios de nefrotoxicidad. Es una potente toxina selectiva para las células β de páncreas en ratas y ratones cuando se suministra intravenosamente en una dosis única (Islas et al., 2000).

La AL es un análogo cíclico de la urea, extremadamente inestable en soluciones acuosas a pH neutro, su tiempo de vida medio es de 2.8 min. en dosis de 50 o 100 mg/kg de aloxana. Dependiendo de la cepa, y el sexo altas dosis de AL (entre 50 y 80 mg/kg de peso) son generalmente efectivas en producir hiperglucemia crónica (Rodríguez et al. 1999, Islas et al., 2000, Jacobs, 1937).

La AL es un análogo cíclico de la urea, extremadamente inestable en soluciones acuosas a pH neutro, su tiempo de vida medio es de 2.8 min en dosis de 50 o 100 mg/kg de aloxana. Dependiendo de la cepa, y el sexo altas dosis de AL (entre 50 y 80 mg/kg de peso) son generalmente efectivas en producir hiperglucemia crónica (Rodríguez et al. 1999, Islas et al., 2000, Jacobs, 1937).

El efecto diabetogénico de la aloxana es rápido, produciendo una hipoglucemia aguda a una hora post-administración, seguido por una hiperglucemia franca a las 48 horas. En un análisis de microscopía electrónica se muestra que las células β sufren necrosis (Battell et al., 1999).

Estreptozotocina.

La estreptozotocina (STZ) es un antibiótico de amplio espectro producido por *Streptomyces achromogenes*. En su estructura química la STZ contiene una molécula de glucosa con una alta reactividad de la cadena de nitrosurea que es suficiente para iniciar la acción citotóxica. La movilidad de la glucosa lleva este agente hacia las células β del páncreas, donde se une al receptor de membrana para generar un daño estructural (Rodríguez et al. 1999, Islas et al. 2000, Battell et al. 1999, Sybulsky and Maughan 1971):

A nivel intracelular son tres las vías principales mediante las que la STZ induce la muerte de las células β :

1. **Metilación:** el efecto deletéreo de la STZ da por resultado la generación de radicales CH_3 ; estos radicales causan la fragmentación del DNA por alquilación de las bases en varias posiciones y esto resulta en la activación de la poli-ADP-ribosa sintetasa como parte del mecanismo de reparación celular (Battell et al. 1999, Sybulsky and Maughan 1971).
2. **Radicales libres:** El peróxido de hidrógeno es producido por las células pancreáticas como respuesta a la exposición a STZ tanto *in vivo* como *in vitro*; sin embargo, como la superóxido dismutasa es un detector de radicales libres, puede proteger contra las propiedades diabetogénicas,

estos datos indican que el estrés oxidativo podría participar en la determinación de la toxicidad por STZ (Battell et al 1999).

3. Oxido nítrico (NO), aunque el proceso metabólico preciso que lleva a la formación de NO no se conoce, puede involucrar a la degeneración de STZ. Se ha observado que los macrófagos activados –producto de la reacción inflamatoria- promueven la producción de NO mediando la destrucción autoinmune de las células β del páncreas sin que se observe insulinitis.

Cualquiera que sea el mecanismo para la generación de NO por STZ, este será implicado significativamente en su citotoxicidad sobre las células β (Battell et al. 1999, Donat et al., 1999).

Dexametasona.

La dexametasona (figura 2) es un glucocorticoide potente y estable que tiene propiedades de corticoesteroide y es utilizado como anti-inflamatorio, esta función se atribuye a que induce la síntesis de macrocortina, la cual inhibe la fosfolipasa A2 y, en consecuencia, todo el proceso de síntesis de prostaglandinas, tronboxanos y leucotrenos; además, suprime la migración leucocitaria, estabiliza la membrana liposómica, reduce la actividad de los fibroblastos, revierte los efectos capilares de la histamina e inhibe la formación de anticuerpos, otra propiedad es la de antirreumático, también tiene efectos inmunosupresores en una gran variedad de desordenes (Rodríguez, 1995). En estudios de bioquímica, la dexametasona es utilizada en el hígado para inducir la tirosin-amino-transferasa y también es empleada como droga que controla la náusea y el vómito inducido por la quimioterapia (Sigma St. Louis MO. USA). El tratamiento con altas dosis de dexametasona es utilizado para tratar la oftalmopatía de la enfermedad de Graves. La dosis recomendada para su utilización está en el rango de 0.5mg/Kg., (Sigma St. Louis MO. USA).

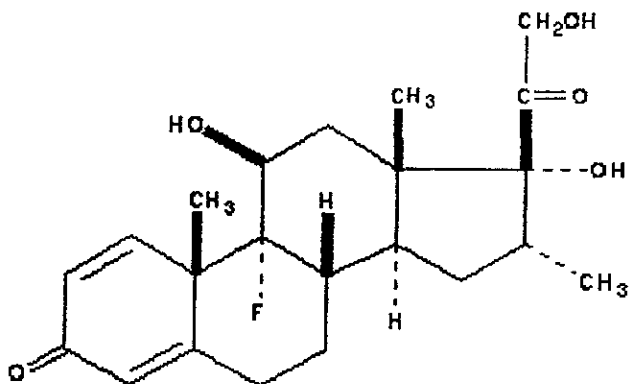


Figura. 2. Estructura de la dexametasona.

Trabajos (Dimitradis, 1997) realizados con dexametasona demostraron que disminuye la sensibilidad del transportador de la 3-O-metilglucosa, la fosforilación de la 2-deoxiglucosa, la síntesis de glucógeno y la oxidación de la glucosa en respuesta a la insulina.

También se ha encontrado que la dexametasona causa resistencia a la insulina en músculo esquelético por inhibición directa de la translocación de los transportadores de glucosa 4 (GLUT4) en la membrana plasmática en respuesta a insulina aunque la actividad de la hexocinasa no se ve afectada (Dimitradis, 1997).

La sensibilidad de la síntesis de glucógeno y la oxidación de glucosa por insulina está disminuida, pero esto no afecta la glucólisis: una redistribución de la vía de la glucosa hacia la síntesis de glucógeno y la oxidación de la glucosa puede mantener una tasa normal de formación de lactato aunque la tasa de transportador de glucosa este disminuida (Dimitradis, 1997).

BIOTINA.

La biotina (figura 3) es una vitamina hidrosoluble del grupo del complejo B que es esencial para funciones celulares y de crecimiento. Está directamente involucrada como grupo prostético de las carboxilasas, enzimas que participan en

procesos metabólicos tan importantes como la gluconeogénesis, biosíntesis de ácidos grasos y catabolismo de algunos aminoácidos (Combs, 1994).

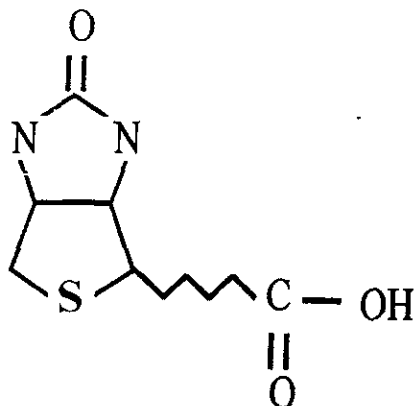


Figura 3. Estructura de la biotina.

También se ha demostrado que la biotina está involucrada en la regulación de la expresión génica de ciertas enzimas como la glucocinasa y la fosfoenolpiruvato carboxicinasas y del receptor de asialoglicoproteína (Said, 1991).

La biotina se encuentra presente en pequeñas cantidades en una gran cantidad de alimentos unida covalentemente a proteínas. Solo tres alimentos contienen de 80 a 400 μg de biotina por 100g de nutrimento: la jalea real, la levadura de cerveza y los riñones de ternera. Otras fuentes naturales ricas en biotina (de 25 a 60 μg por 100g de nutrimento) son la yema de huevo, el hígado, avena, sorgo, salvado, oleaginosas, soya, alfalfa, cacahuates y nueces.

Independientemente del contenido de biotina que contenga un alimento, la disponibilidad de ésta para ser absorbida depende del tipo de proteína a la cual se encuentra unida. La disponibilidad biológica de la biotina presente en el maíz es del 100%, en tanto que la unida al trigo es menor del 5%. En general, menos de la mitad de la biotina presente en los alimentos está disponible biológicamente. A pesar de ello la deficiencia de biotina es rara por que ésta es sintetizada por la

flora bacteriana intestinal y, de esta manera contribuye a cubrir las necesidades de la vitamina (Combs,1994).

Absorción, transporte y distribución de la biotina.

La biotina unida a proteínas es liberada por la acción de proteasas digestivas dando origen a la formación de biocitina. Ésta a su vez es transformada a biotina por medio de la acción de la biotinidasa. Una vez libre la biotina es absorbida en el intestino delgado por un mecanismo de difusión facilitada dependiente de sodio, el transporte es mayor en el yeyuno que en el ileum (Said y Redha, 1988). El proceso de absorción es inhibido por la valinomicina, drogas anticonvulsiantes y por ingestión crónica de etanol. El intestino grueso parece tener un papel importante en la absorción entérica de biotina producida por la flora intestinal. En estudios en ratas se ha demostrado una capacidad del colón de absorber la biotina sintetizada por la flora bacteriana, esta fuente de biotina parece contribuir de manera importante en los animales no rumiantes (Combs,1994). En la especie humana no se ha determinado el mecanismo por el que la biotina es transportada (Wolf y Heard, 1995).

La manera como es transportada la biotina en el plasma no está bien caracterizada. Aproximadamente un 40% se encuentra libre y puede ser removida por diálisis. Otra parte de la biotina plasmática parece estar ligada a una glicoproteína que posee al mismo tiempo actividad de biotinidasa. La vitamina también puede transportarse unida inespecíficamente a la albúmina y a alfa y beta-globulinas (Combs, 1994).

El transporte de biotina se ha estudiado en enterocitos de rata, células HeLa, fibroblastos humanos y de ratón, hepatocitos de rata entre otros tipos celulares. Las células HeLa y los fibroblastos humanos toman la biotina de un complejo biotina-proteína, mientras que la biotina libre es transportada de manera más lenta (Wolf y Heard, 1995). La entrada de biotina en hepatocitos aislados puede involucrar procesos que son dependientes de sodio (Wolf y Heard, 1995). La biotina libre es transportada al interior de enterocitos de hámster por un sistema de

transporte facilitado (León del Río y cols , 1993). La biotina unida a proteínas como la avidina es capaz de ser captada por pinocitosis y posteriormente es liberada (Dakshinamurti y cols., 1985).

Estudios sobre la distribución intracelular de la biotina en el hepatocito demostraron que la vitamina, además de estar presente en la mitocondria y en el citosol, -patrón de distribución acorde a las enzimas que usan a la biotina como grupo prostético,- se encuentra también en una proporción del 20% en el núcleo, donde no parece encontrarse unida covalentemente a proteínas que catalizen reacciones de carboxilación (Dakshinamurti y Mistry, 1963a; Dakshinamurti y Mistry, 1963b).

La actividad de la biotinidasa varía enormemente entre diferentes especies de animales y entre sus diferentes órganos (León del Río y cols., 1990). Se ha propuesto que la biotinidasa pancreática juega un papel crítico en el procesamiento de la biotina unida a proteínas de la dieta. La cantidad de biotina (libre o unida a lisina) absorbida en algunas especies puede ser dependiente de los niveles de la enzima pancreática (León del Río y cols., 1990).

Actividad de la biotina sobre el metabolismo.

La biotina, (figura 4), participa como grupo prostético en diversas reacciones de carboxilación de procesos metabólicos tan importantes como gluconeogénesis, biosíntesis de ácidos grasos y catabolismo de algunos aminoácidos. La unión a sus apoenzimas se encuentra catalizada por la holocarboxilasa sintetasa a través de la formación de una unión con el grupo ϵ -amino de un residuo de lisina.

Las enzimas en las cuales la biotina actúa como grupo prostético son: 1) Acetil-CoA carboxilasa, 2) Propionil-CoA carboxilasa, 3) Piruvato carboxilasa y 4) 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa. La acetil-CoA carboxilasa es una enzima que se encuentra tanto en el citosol como en la mitocondria, mientras que las otras tres son mitocondriales (Shils et al, 1999).

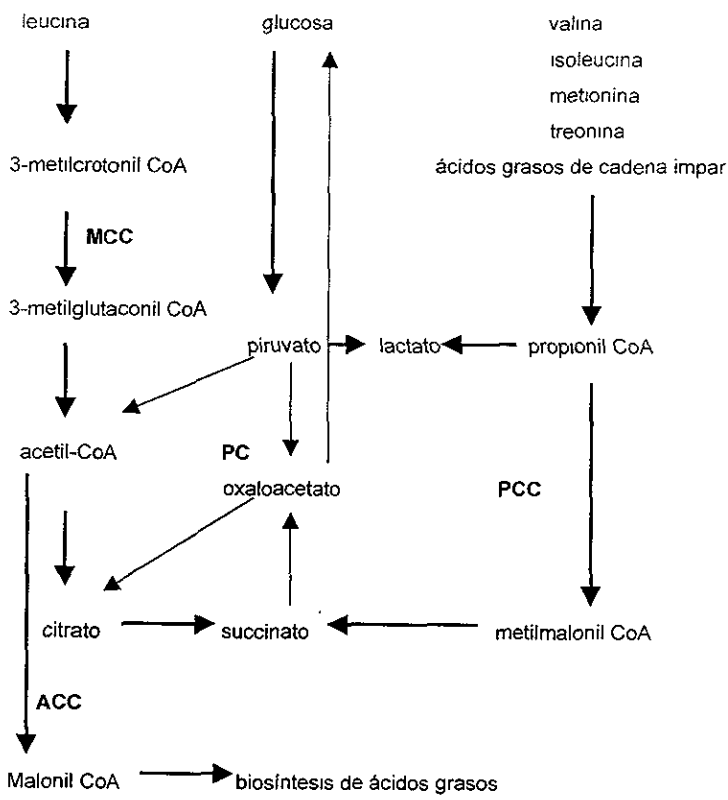


Figura 4. Rutas metabólicas en las que participan las enzimas que tienen a la biotina como cofactor. (ACC= acetil CoA carboxilasa; PC= piruvato carboxilasa; PCC= propionil CoA carboxilasa y MCC= 3-metilcrotonil CoA carboxilasa.)

La acetil-CoA es una enzima reguladora de la lipogénesis, que cataliza la conversión de acetil-CoA a malonil-CoA, compuesto iniciador de la lipogénesis. La piruvato carboxilasa regula la gluconeogénesis a través de la carboxilación del piruvato para formar oxalacetato, que a su vez será transformado a fosfoenolpiruvato, iniciando la vía gluconeogénica.

La propionil-CoA carboxilasa es una enzima clave de la vía catabólica de ácidos grasos de cadena impar y de aminoácidos de cadena ramificada, así como de la metionina y treonina. La β -metilcrotonil-CoA carboxilasa cataliza la conversión de β -metilcrotonil-CoA a β -metilglutaconil CoA, una de las reacciones de la vía degradativa de la leucina.

Efecto de la biotina sobre la expresión génica.

Además de su función como grupo prostético de las carboxilasas, la biotina afecta la expresión génica (Dakshinamurti y Chauhan, 1994).

Se ha demostrado que en los mamíferos, la biotina tiene un efecto positivo sobre la regulación de la glucocinasa hepática y sobre el receptor hepático de la asialoglicoproteína (Collins y cols., 1988). En contraste, la biotina disminuye la expresión de la fosfoenol piruvato carboxilasa hepática sin afectar a la isoenzima renal (Dakshinamurti y Li, 1994).

Spence y Pilot (1979), reportaron que la actividad de la glucocinasa fue incrementada en cultivo de hepatocitos de rata en respuesta a la suplementación con 8-Br-GMPc. (Spence y Koudelka, 1984), y la adición de biotina al medio de cultivo incrementa los niveles intracelulares de GMPc, así como la actividad de la glucocinasa.

La expresión del receptor asialoglicoproteína de las líneas celulares hepática HuH7 y HepG2 se redujo en un 60-70% en un medio de cultivo suplementado con suero fetal de bovino sin biotina. La adición de 8-Br-GMPc al medio de cultivo restableció el estado de expresión del receptor, la adición de biotina y 8-Br-GMPc al medio no produjo un efecto aditivo. Esto sugiere que el efecto de la biotina puede estar mediado por los cambios en los niveles del GMPc (Spence y Koudelka, 1984).

Un denominador común observado en la expresión de la glucocinasa y el receptor de la asialoglicoproteína es el aumento en el contenido celular de GMPc (Stockert y Ren, 1997). Este efecto sugiere que es un segundo mensajero el que genera los efectos inducidos por la biotina y corrobora los estudios de (Vesely y cols., 1982),

quienes encontraron que la biotina en concentraciones micromolares produce un aumento en la actividad de la guanilato ciclasa. Sin embargo, se ha demostrado que la biotina produce su efecto de inducción a dosis menores, lo que sugiere la existencia de otro mecanismo de acción. La presencia de biotina en el núcleo (Dakshinamurti y Mistry, 1963a y b) así como la presencia de biotina de una proteína de 60 kD presente en el núcleo capaz de unir reversiblemente a la vitamina con una constante de disociación de aproximadamente 2.2×10^{-7} M (Dakshinamurti y cols., 1985; Dakshinamurti, 1994), apoya la existencia de un segundo mecanismo de regulación génica de la biotina a dosis menores a las milimolares, a través de un receptor nuclear, de manera similar al mecanismo usado por las vitaminas A y D.

Se ha demostrado que el efecto de la biotina sobre la expresión de la glucocinasa y la fosfoenolpiruvato carboxicinasas hepáticas se efectúa a nivel de un aumento en la transcripción de estos genes (Dakshinamurti y Li, 1994); Chauhan y Dakshinamurti, 1991). En estos trabajos se demuestra que la administración de biotina incrementa aproximadamente 7 veces la transcripción de la glucocinasa y decreta 2 veces la transcripción de la fosfoenolpiruvato cinasa. El tiempo corto (15-30 minutos) en el que la biotina produce los cambios en la expresión de estos genes sugiere un efecto directo sin requerimiento de la inducción de otros factores transcripcionales para mediar su acción. Para el caso de la glucocinasa el efecto de la biotina se produce asociadamente con un aumento en las concentraciones de GMPc (Spence y Koudelka, 1984).

A diferencia de la regulación transcripcional producida por la biotina sobre la glucocinasa y la fosfoenolpiruvato carboxicinasas, el efecto producido por la vitamina sobre la expresión del receptor de asialoglicoproteína se encuentra ligado a la traducción de éste. Para este receptor el efecto de la biotina está relacionado a un incremento del contenido celular de GMPc (Stockert y Morell, 1990; Stockert y Ren, 1997). Este segundo mensajero a su vez aumenta una proteína, la cual se une a la región 5' no traducida del ARN mensajero del receptor repercutiendo así en un efecto estimulador de la traducción del receptor de la asialoglicoproteína (Stockert y Ren, 1997). Este efecto traduccional no es necesariamente

incompatible con una acción génica de la biotina. Es posible que el efecto primario de la biotina sobre el receptor de la asialoglicoproteína se efectúe a través de un incremento de la transcripción de la proteína de unión al ARN mensajero y que el aumento de esta proteína, a su vez, produzca de manera secundaria el incremento observado sobre el receptor.

Efectos de la biotina sobre el metabolismo de los carbohidratos.

Diversos estudios han encontrado que la biotina es capaz de afectar el metabolismo de los carbohidratos, estos efectos han sido puestos de manifiesto en diferentes modelos experimentales, a continuación se describen los efectos de la biotina en: A) modelos animales deficientes de biotina y B) modelos de animales diabéticos.

EFFECTO DE LA DEFICIENCIA DE BIOTINA SOBRE EL METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS: Las primeras evidencias que sugirieron que la biotina intervenía en el metabolismo de los carbohidratos fueron obtenidas en animales deficientes de biotina.

Efecto de la deficiencia de biotina sobre la glucemia: Trabajos de Dakshinamurti et al. en la década de los 60 demostraron que las curvas de tolerancia a la glucosa de las ratas deficientes de biotina presentaban incrementos de glucosa sanguínea significativamente aumentados con respecto a los incrementos producidos en las ratas normales (Dakshinamurti et al. 1968).

Efecto de la deficiencia de biotina sobre el hígado: La incorporación de glucosa a glucógeno hepático y la fosforilación de glucosa en el hígado se encuentran disminuidas en las ratas deficientes en biotina (Dakshinamurti et al. 1962), el efecto de la deficiencia de la vitamina está ligado a un decremento en la actividad de la glucocinasa hepática (Dakshinamurti and Cheah-Tan 1968). En este mismo trabajo se reporta que la deficiencia de biotina aumenta la actividad de

la enzima gluconeogénica glucosa 6-fosfatasa. Estos datos, sin embargo no fueron corroborados por Deodhar y Mistry (1969) quienes encontraron que la deficiencia de biotina no parece afectar la actividad de la glucosa-6-fosfatasa ni la actividad de otras enzimas gluconeogénicas como fructosa 1,6-difosfatasa, ni fosfoenol piruvato carboxilasa.

Efecto de la deficiencia de biotina sobre el páncreas: Estudios efectuados en nuestro laboratorio con ratas deficientes de biotina demostraron que la carencia de la vitamina produce una disminución de la actividad y niveles de ARN mensajero de la glucocinasa pancreática, enzima clave en el proceso que permite a la célula beta secretar insulina en respuesta a la glucosa (Romero-Navarro et al 1999). En nuestros estudios también se encontró que los islotes pancreáticos aislados de ratas deficientes de biotina, poseen una secreción disminuida de la insulina en respuesta a la glucosa (Romero-Navarro 1999). Un reporte publicó la existencia de una secreción disminuida de la insulina en experimentos efectuados en islotes perfundidos aislados de ratas deficientes en la vitamina (Furukawa 1999).

EFFECTOS DE LA BIOTINA SOBRE EL METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS EN MODELOS ANIMALES DIABÉTICOS.

Efectos sobre la hiperglucemia: Diversos estudios han demostrado que la biotina mejora la glucemia en el estado diabético: Pacientes diabéticos de tipo 1 (insulino dependientes), disminuyeron sus niveles de glucosa en ayuno, después del tratamiento de una semana con biotina (16 mg/día) durante una semana sin recibir insulina exógena (Coggeshall et al. 1985).

Una mejoría es también observada en un estudio en pacientes japoneses diabéticos de tipo 2 (Maebashi et. al 1993). En ellos se encontró que la administración oral de 9 mg de biotina durante un mes disminuyó los niveles de glucosa sanguínea en ayuno de 12.9 ± 2.6 mmol/L a 7.1 ± 1.2 mmol/L. La suspensión del tratamiento produjo un retorno a los niveles de glucosa observados antes del tratamiento. Este mismo estudio también demostró que el tratamiento

con biotina disminuyó los niveles de glucosa en ayuno en pacientes que habían sido tratados sin éxito durante un año con el hipoglucemiante oral glibenclamida (10 mg/día), esta mejoría se mantuvo durante más de 96 semanas administrándose en combinación con 2.5 mg de glibenclamida.

En un estudio con pacientes en hemodiálisis con metabolismo anormal de glucosa, se encontró que la administración de biotina mejoró los niveles de glucosa en ayuno, la curva de tolerancia a la glucosa y la hemoglobina glucosilada del 75% de los pacientes estudiados (Koutsikos et al. 1996). Este mismo grupo (1990) también encontró que el tratamiento con biotina produjo notables beneficios en pacientes diabéticos con neuropatía periférica severa.

El efecto producido por la biotina sobre los niveles de glucosa también han sido observado en modelos animales. En ratones de la cepa KK no obesos, modelo animal de Diabetes tipo 2 moderada que se caracteriza por un estado prediabético debido a una resistencia a la insulina (Reddi et al. 1988), se encontró que el tratamiento con la vitamina (2mg/Kg peso) disminuyó la glucemia a los 30 y 60 minutos después de una carga de glucosa. El tratamiento con biotina (2mg/kg de peso) no afectó la concentración de insulina plasmática, ni en el ayuno ni después de la carga de glucosa (medido a 1 y 2 horas), sin embargo en el tratamiento con dosis de 4 mg/Kg provoca una disminución de la insulina plasmática. Estos estudios también encontraron que el tratamiento con biotina produjo un decremento mayor de glucosa sanguínea en respuesta a la inyección intraperitoneal de insulina, lo que sugiere que la biotina aumenta la sensibilidad a la insulina.

Reddi y cols. 1988 encontraron que la biotina no es capaz de mejorar la glucemia en ratas diabéticas debido al tratamiento con estreptozotocina ni en ratones obesos (db/db), en ambos modelos las concentraciones de glucosa se encontraban en el rango de 400-500 mg/dl. Sin embargo (Zhang y cols.1997) encontraron que la tolerancia a la glucosa de las ratas con diabetes inducida con estreptozotocina mejora parcialmente con el tratamiento durante 15 días con biotina (100 microgramos/día).

En la cepa OLETF, modelo animal de Diabetes tipo 2 con hiperinsulinemia debido a resistencia a la insulina, el tratamiento con biotina mejoró las curvas de tolerancia a la glucosa y redujo la hiperinsulinemia (Zhang et al 1996).

Efectos sobre el hígado de animales diabéticos: Estudios en modelos experimentales de ratas diabéticas inducidas por el tratamiento con alloxana o con estreptozotocina (Dakshinamurti et al. 1970, Zhang et. al 1997) encontraron que la biotina aumentó la actividad de la glucocinasa hepática el incremento se produce a través de un aumento de la síntesis “de novo” de la proteína. El tratamiento con la vitamina también incrementó las actividades de las enzimas glucolíticas: fosfofructocinasa y piruvato cinasa, pero no de la enzima bifuncional fosfohexosa isomerasa (Dakshinamurti et al 1970). Por otro lado en ratas cuya diabetes fue inducida por streptozotocina (Dakshinamurti y Li 1994) la biotina redujo la transcripción de la fosfoenolpiruvato cinasa, enzima limitante de la gluconeogénesis. Estas observaciones apoyan el concepto de que la biotina posee un efecto hipoglucemiante al favorecer la glucólisis y disminuir la gluconeogénesis.

Efectos sobre el páncreas de animales diabéticos. En el modelo diabético producido por estreptozotocina, se observó que el tratamiento por 15 días con biotina (100 microgramos/rata/día), aumenta la actividad de la glucocinasa pancreática sin afectar la secreción de la insulina (Zhang et al 1997). Sin embargo estos resultados son difíciles de interpretar debido a la toxicidad del tratamiento de la estreptozotocina sobre las células beta.

Efecto sobre el tejido periférico de animales diabéticos. No existen estudios en la literatura sobre el efecto de la biotina sobre los mecanismos de captación de glucosa por el músculo, sin embargo, algunos de los datos reportados por Reddi et al. (1988) en el ratón diabético KK y por Zhang et al. (1996) en ratas diabéticas OLETF, sugieren que la biotina podría afectar el metabolismo de carbohidratos en el músculo. (Reddi et al 1988), encontraron que la disminución de glucosa

sanguínea después de una inyección insulina se encuentra significativamente reducida en los ratones diabéticos tratados con la vitamina. Dado que el 80-90% de la captación de glucosa postprandial la efectúa el tejido muscular (Salatiel y Olefsky 1996), los datos obtenidos por Redii et al. indirectamente sugieren que la biotina favorece la captación de glucosa en el músculo. Por otro lado, en los experimentos efectuados en la en la cepa OLETF (modelo animal de Diabetes tipo 2 con hiperinsulinemia), el tratamiento con biotina mejoró las curvas de tolerancia a la glucosa y redujo la hiperinsulinemia, indicando una mejora en la sensibilidad a la insulina del tejido periférico.

Otros efectos de la Biotina.

Se ha demostrado que la biotina puede afectar el proceso de diferenciación celular (Rosen, 1979.) También se ha reportado malformaciones congénitas en embriones de pollo de gallinas domesticas alimentadas con una dieta deficiente en biotina (Cravens y cols. , 1944.)

La deficiencia materna de biotina es altamente teratogénica en ratones aún cuando la madre no exhibe los signos clínicos típicos de la deficiencia de esta vitamina (Watanabe, 1983.)

También se ha demostrado que la biotina afecta la diferenciación tisular (Rosen y cols.) ,1979), el desarrollo embrionario (Cravens y cols. ,1944, Watanabe y Endo, 1984.) y el crecimiento celular (Bhullar y Dakshinamurti, 1985). La función testicular e inmunológica también se ven afectadas por la biotina (Dakshinamurt y Chauhan, 1994.)

HIPÓTESIS

La biotina tiene un efecto hipoglucemiante en ratas con diabetes tipo 2 inducida por glucocorticoides.

OBJETIVO PRINCIPAL.

Determinar el efecto hipoglucemiante de la biotina en un modelo animal diabético tipo 2 producido por glucocorticoides.

OBJETIVOS PARTICULARES.

Determinar si la biotina puede evitar el desarrollo de la diabetes tipo 2 en éste modelo experimental.

Determinar si la biotina es capaz de disminuir la hiperglucemia presente en la diabetes tipo 2 en este modelo experimental.

Evaluar el efecto de la biotina sobre las concentraciones de insulina en la diabetes inducida por dexametasona.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Animales experimentales. Se utilizaron 52 ratas macho de la cepa Wistar con un peso entre 400-460g.

Obtención: Los animales fueron obtenidos del bioterio del Instituto Nacional de Pediatría y del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

Modelo experimental. La selección de los grupos experimentales se efectuó analizando la glucosa en ayuno de las ratas tratadas con dexametasona, de acuerdo a los lineamientos establecidos por la OMS. Las ratas que presenten concentraciones de glucemia en ayuno por arriba de 126 mg/dl se consideraron diabéticas.

Los animales fueron colocados por grupos de 4 en jaulas con 12 horas de luz por 12 de oscuridad, con alimento y agua *ad libitum*. Se separaron aleatoriamente en 3 grupos:

Lote A. 6 ratas fueron tratadas con biotina, a una dosis de 2 mg/kg de peso por vía intraperitoneal (ip) durante 7 días una vez finalizado este tiempo se les midió glucosa en ayuno; a continuación se les administro vía ip dexametasona en una concentración de 2mg/kg durante 5 días conjuntamente con biotina al termino de este se les midió glucosa en ayuno y se les hizo curva de tolerancia a la glucosa.

El grupo de ratas control, de similares características de sexo y edad, recibieron inyecciones de solución salina ip por 7 días al concluir este tiempo se cuantificó la glucosa en ayuno; después se les administró 2 mg/kg de dexametasona ip durante 5 días, conjuntamente con solución salina en esta parte del tratamiento se cuantificó glucosa en ayuno y se les hizo una curva de tolerancia a la glucosa.

Lote B1. A un grupo de 10 ratas se les tomo medición de glucosa en ayuno a continuación; fueron inyectadas con biotina (2mg/kg de peso) ip durante 7 días al termino de este tiempo se les hizo medición de glucosa en ayuno, posteriormente se procedió a la inducción de diabetes con 0.5 mg/kg de dexametasona ip sola durante cinco días al final se les tomo de nuevo medición de glucosa en ayuno.

Lote B2. A un grupo de 10 ratas se les hizo medición de glucosa en ayuno a continuación; fueron tratadas con solución salina ip durante 7 días al concluir este se les cuantificó la glucosa en ayuno, posteriormente se procedió a la inducción de diabetes con 0.5 mg/kg de dexametasona ip sola durante cinco días, finalmente se les hizo una última medición de glucosa en ayuno.

Lote C1. A 10 ratas se les hizo medición de glucosa en ayuno, después fueron tratadas con 0.5 mg/Kg de dexametasona ip durante 3 días al termino de estos se les hizo una medición de glucosa en ayuno, en la segunda fase del experimento, se continuó el tratamiento con dexametasona más solución salina ip por 3 días al finalizar el tratamiento se les hizo medición de glucosa en ayuno.

Lote C2. A 10 ratas se les hizo una medición de glucosa en ayuno a continuación; fueron tratadas con 0.5 mg/Kg de dexametasona ip durante 3 días al termino de estos se midió la glucosa en ayuno, en la segunda fase del experimento, se continuó el tratamiento con dexametasona más biotina (2mg/kg de peso) ip por 3 días al finalizar el lapso de tiempo se les hizo la correspondiente medición de glucosa en ayuno.

Únicamente al grupo C se le tomaron dos muestras de sangre una para la cuantificación de glucosa en ayuno y otra para RIA, esta muestra de centrifugó a 8000 rpm durante 10 minutos, posteriormente se separó el suero y se congeló a -70°C para su análisis ulterior.

Curva de tolerancia a la glucosa. Ratas Wistar de 400-460 gr de peso fueron mantenidas en ayuno por 16 horas. La curva de tolerancia se efectuó bajo anestesia total producida con 200µl de fentobarbital. La obtención de sangre se efectuó a través de una insición en la cola del animal de donde se procedió a tomar la muestra de sangre (400µl/25µl de heparina). Después de la obtención de la muestra de sangre en ayunas se administró una solución glucosada al 10 % por vía intraperitoneal, a los 20', 40' y 120' de la inyección de la solución glucosada se procedió a tomar las muestras de sangre. De estas muestras se tomaron 32µl para determinar la concentración de glucosa.

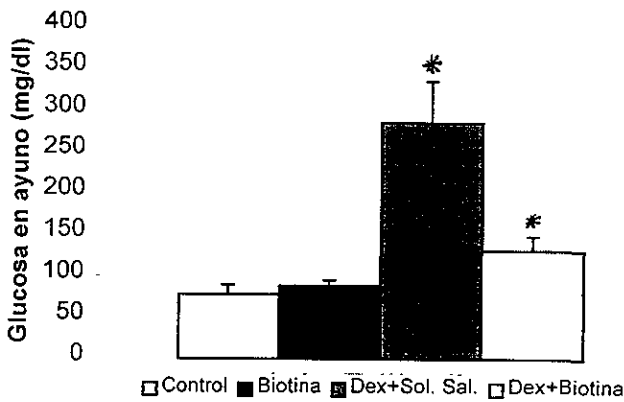
Análisis de la concentración de glucosa. Se determinó por medio de tiras reactivas (Reflotron, Glucosa, marca Roche, Mannheim, Alemania) en un aparato de reflectometría marca Reflotron® (Mannheim, Alemania). De acuerdo a los fabricantes el aparato tiene un coeficiente de variación del 2 al 4%. Las concentraciones normales de glucosa en ayuno, determinada por este método, son de 76 a 110 mg/dl (4.22 a 6.11 mM). En ratas los valores normales oscilan entre los 60-110 mg/dl

Análisis de la concentración sérica de insulina. Se determinó por la técnica de radioinmunoensayo (RIA), a través de un kit comercial (ICN, Costa Mesa, California, EU). Esta técnica fue desarrollada originalmente por Berson y Yalow (1959) en ella se permite que una muestra desconocida de insulina no marcada compita con una cantidad conocida de insulina radiactiva por la unión a los anticuerpos contra insulina. El grado de desplazamiento de la insulina marcada a partir de los anticuerpos mediante la insulina desconocida no marcada se mide separando la insulina unida de la libre y analizando la radioactividad en una o en ambas fracciones. En personas normales los valores normales de insulina *inmunorreactiva* van de 5 a 20 $\mu\text{U/mL}$ en el estado de ayuno. En ratas los valores normales de insulina se encuentran en un intervalo de 10-20 $\mu\text{U/mL}$ en el estado de ayuno.

Estadística. Los datos son presentados como la media \pm error estandar. Comparaciones individuales fueron evaluadas por la prueba de dos colas de t de Student, comparaciones múltiples fueron evaluadas por la prueba de ANOVA de una sola vía. El nivel de significación escogido fue ≤ 0.05 .

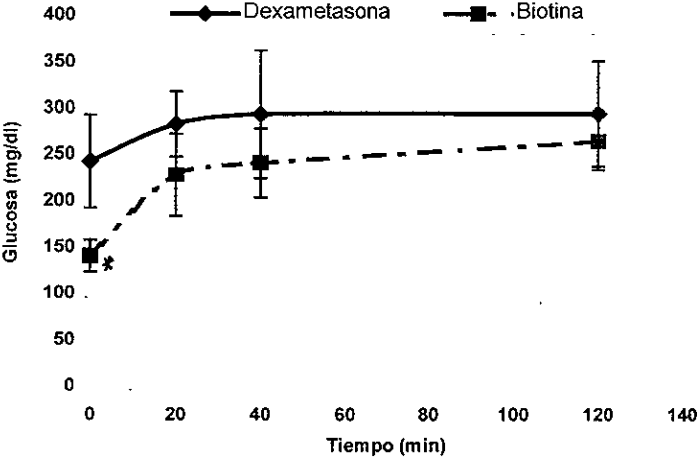
RESULTADOS.

Como puede observarse en el lote A (gráfica 1), las concentraciones de glucosa en ayuno no sufrieron cambios significativos entre las ratas tratadas con biotina y las que recibieron solución salina. Los niveles de glucosa en ayuno disminuyeron en aquellas ratas que recibieron el tratamiento con dex+biotina, pero aquellas que fueron tratadas con dexametasona+sol. sal. tuvieron un aumento considerable en su glucosa en ayuno en comparación con la rata que recibió biotina y el control.



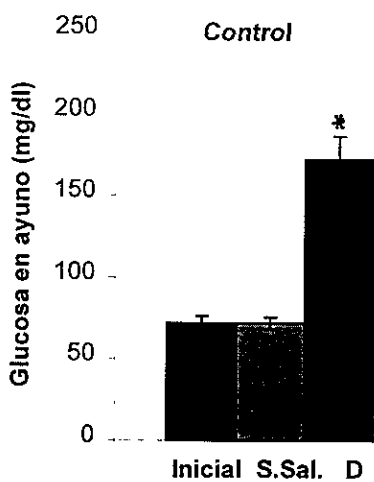
Gráfica 1 Concentraciones de glucosa en ayunas de ratas pretratadas con o sin biotina a las cuales se les indujo diabetes con dexametasona (2mg/kg de peso) en presencia o ausencia de biotina * $p \leq 0.05$ y con una $n = 6$.

Las curvas de tolerancia del lote A (Gráfica 2) en la segunda fase del experimento muestran que las ratas que recibieron el tratamiento con la vitamina presentan una tendencia a disminuir las concentraciones de glucosa sanguínea, aunque solamente es significativo para la glucosa en ayuno en todos los demás puntos se traslapan los errores estándar.



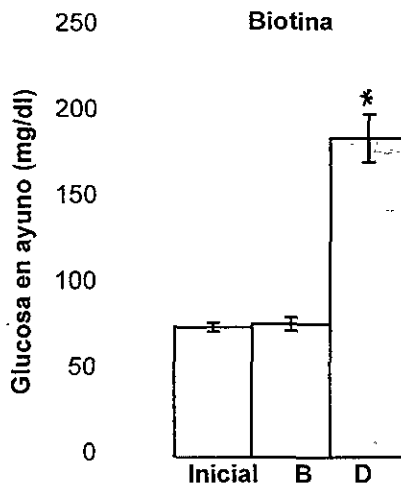
Gráfica 2 Curva de tolerancia de ratas pretratadas con o sin biotina a las cuales se les indujo diabetes con dexametasona (2mg/kg de peso) en presencia o ausencia de biotina *p<0.05 n=6.

Como puede observarse en la (gráfica B1), la glucemia en ayuno del grupo control no se modificó al ser pretratado con solución salina pero al ser tratado con dexametasona sola se evidencia el efecto diabético de la misma



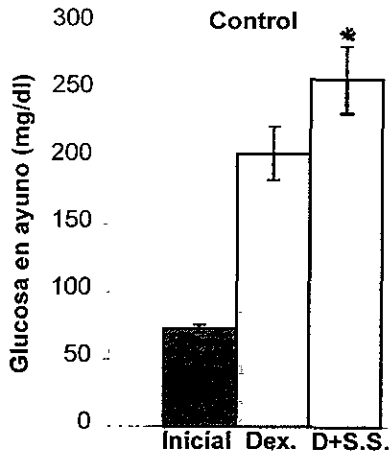
Gráfica B1. Concentraciones de glucosa en ayunas de ratas pretratadas con solución salina a las cuales se les indujo diabetes con dexametasona sola. * $p \leq 0.05$

Como puede observarse en la (grafica B2) los valores de glucosa en ayuno no se vieron modificadas por el pretratamiento con la vitamina, pero al ser tratadas con dexametasona sola se vio un incremento significativo de la glucosa en ayuno, por lo tanto la biotina no pudo ejercer su acción para evitar el efecto diabetogénico de la dexametasona.



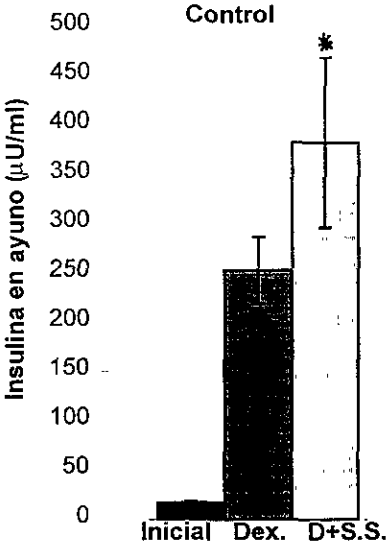
Grafica B2. Concentraciones de glucosa en ayuno de ratas pretratadas con biotina a las que se les indujo diabetes con dexametasona. * $p \leq 0.05$

En el lote C1 se encontró que el grupo de ratas control que recibió dexametasona más solución salina presentó un aumento significativo en la glucosa en ayuno, elevando así el estado diabético de las ratas.



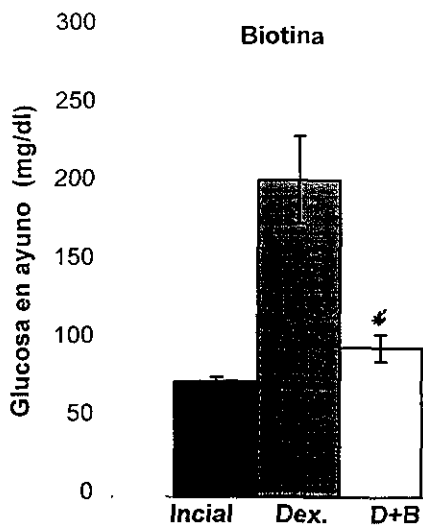
Gráfica C1. Efecto de la dexametasona sola y dexametasona más solución salina sobre la glucemia en ayuno. * $p \leq 0.05$

Como puede verse en las gráfica C1' y C2' el grupo control tratado con dexametasona por 3 días produjo un acentuado incremento de las concentraciones de insulina , la continuación del tratamiento con dexametasona y solución salina produjo un aumento en la hiperinsulinemia.,



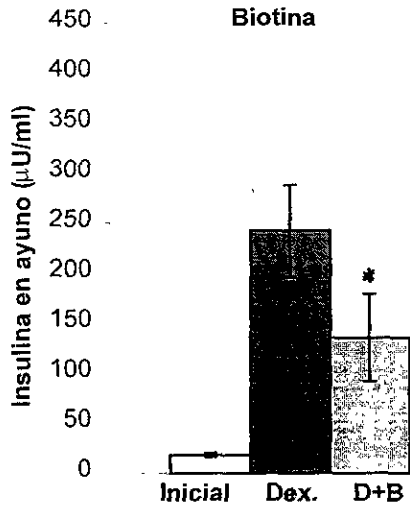
Gráfica C1'. Efecto del tratamiento con biotina sobre la hiperinsulinemia causada por la dexametasona. * $p \leq 0.05$ y con una $n = 20$

En el lote C2 se encontró que la biotina produjo una reversión de la hiperglucemia a una concentración normal de glucosa de 90.5 ± 9.7



Gráfica C2. Efectos de la administración ip de dexametasona sola y la administración simultánea con biotina sobre la glucemia en ayuno * $p \leq 0.05$

Las ratas que continuaron el tratamiento con dexametasona en presencia de biotina redujeron en un 52% la concentración de insulina en ayuno con respecto a la que presentó el control, indicando que la biotina mejora en los niveles de insulina aumentado así la efectividad de la insulina.



Gráfica C2'. Efecto del tratamiento con biotina sobre la hiperinsulinemia causada por la dexametasona. * $p \leq 0.05$

DISCUSION.

Se ha demostrado que (Batell et al 1999, Ogawa et al 1992) la administración durante 5 días con dexametasona (5mg/Kg peso, i.p.), produce un modelo de resistencia a la insulina en 75-84% de las ratas sometidas a este tratamiento, en tanto que el 16-25% de ellas espontáneamente desarrolla Diabetes tipo 2. El tratamiento de ratas con este glucocorticoide produce anomalías en el metabolismo de los carbohidratos similares a las que acontecen en la historia natural de la Diabetes tipo 2 a través de una resistencia a la insulina. En este modelo se produce una respuesta disminuida a la insulina en el transporte de glucosa y en la síntesis de glucógeno (Dimitriadis et al 1997, Okamura 1998, Corderre 1996, Venkatesen 1996), un aumento en la gluconeogénesis hepática (Stojanovska et al 1990, Okamura et al. 1998), e hiperinsulinemia compensatoria (Owaga et al 1992, Pieber et al 1993, Novelli et al. 1999).

Los resultados obtenidos en esta tesis demuestran que la biotina disminuye la hiperglucemia, y por otro lado reduce el desarrollo de la diabetes en un modelo experimental de diabetes mellitus tipo 2 inducido por dexametasona. El hecho de que la biotina sea capaz de disminuir los niveles de glucosa en un modelo diabético y por otro lado disminuya la hiperinsulinemia producida por la dexametasona sugiere que la biotina podría ser usada como agente preventivo contra el efecto diabétogénico de los glucocorticoides, los cuales son ampliamente usados en la práctica médica como inmunosupresores en el tratamiento de diversas enfermedades, como son afecciones reumatológicas, inflamaciones crónicas, problemas dermatológicos, hirsutismo y lupus eritematoso sistémico entre otros.

En el establecimiento de nuestro modelo experimental encontramos que la inducción de diabetes por el método de Ogawa et al 1992 y Batell et al. 1999 resultaba letal para la cepa. Por lo que modificamos el modelo experimental reduciendo la dosis de dexametasona a 2mg/Kg de peso; ésta dosis demostró ser capaz de desencadenar diabetes en todas las ratas inducidas con esta concentración. Sin embargo en el desarrollo de nuestro trabajo experimental

continuamos observando que el estado físico de nuestros animales se encontraba muy deteriorado produciéndose caquexia, pérdidas de peso de hasta el 12 % del peso al continuar el tratamiento, y en algunas de ellas provocando su muerte, por lo que en subsecuentes experimentos se indujo diabetes con una concentración de dexametasona de 0.5 mg/Kg de peso. Resulta interesante notar que también encontramos que la sensibilidad a la dexametasona variaba dependiendo de la susceptibilidad de las ratas.

Las curvas de tolerancia a la glucosa mostraron una tendencia a disminuir las concentraciones de glucosa sanguínea después de una carga de glucosa en ratas tratadas con biotina, aunque no fueron significativas estadísticamente.

En cuanto a las ratas que no recibieron biotina se observó un incremento en la curva de tolerancia a la glucosa en comparación con las ratas tratadas con la vitamina.

La forma que presentan estas curvas es muy característica ya que en un lapso de 2 horas no se observó que bajaran a su valor inicial, sino que se mantienen en valores de glucosa muy altos, es posible que la optimización de la célula beta del páncreas esté muy disminuida y por lo tanto tarda mucho en introducir la glucosa.

En otros modelos experimentales de diabetes tipo 2 se ha descrito el beneficio de la biotina sobre la hiperglucemia. Por ejemplo en la cepa OLETF, modelo animal de Diabetes tipo 2 con hiperinsulinemia debido a resistencia a la insulina, el tratamiento con biotina mejoró las curvas de tolerancia a la glucosa (Zhang et al 1996). En ratones de la cepa KK no obesos, modelo animal de Diabetes tipo 2 moderada que se caracteriza por un estado prediabético debido a una resistencia a la insulina (Reddi et al. 1988), se encontró que el tratamiento con biotina (2mg/kg peso) disminuyó la glucemia a los 30 y 60 minutos después de una carga de glucosa. Sin embargo este mismo grupo (Reddi et al. 1988), en otro trabajo encontraron que la biotina no es capaz de mejorar la glucemia, en ratas diabéticas tratadas con estreptozotocina ni en ratones obesos (db/db), en ambos modelos las concentraciones de glucosa se encontraban en el rango de 400-500 mg/dl. Resulta interesante notar que en los modelos en donde la biotina disminuyó

la hiperglucemia, las concentraciones de glucosa en ayuno oscilaron entre 150 y 250 mg/dl, lo que sugiere que la biotina tiene la capacidad de mejorar la hiperglucemia moderada pero no la hiperglucemia severa.

En nuestros estudios también encontramos que el tratamiento con biotina (2mg/kg de peso), en los grupos experimentales que recibieron el tratamiento con dexametasona por 3 días produjo un acentuado incremento de las concentraciones de insulina, la continuación del tratamiento con dexametasona y solución salina sin biotina produjo un aumento en la hiperinsulinemia, en tanto que las ratas que continuaron el tratamiento con dexametasona en presencia de biotina redujeron en un 52% la glucosa en ayuno, indicando que la biotina mejora la glucemia, disminuyendo así la resistencia a la insulina.

Este efecto difiere de los resultados obtenidos por Reddi et. al 1988, quienes encontraron que en ratones KK el tratamiento con biotina (2 y 4 mg/kg de peso) no afectó la concentración de insulina plasmática en el ayuno; esta discrepancia podría estar dada por el hecho de que las concentraciones de insulina en el modelo del ratón KK se encuentran dentro de los límites normales en tanto que en el modelo inducido por dexametasona las concentraciones de insulina son 10 veces mayores que las concentraciones normales. En apoyo a esta observación, resultados obtenidos en ratas OLETF, modelo animal de Diabetes tipo 2 con hiperinsulinemia debido a resistencia a la insulina, el tratamiento con biotina redujo la hiperinsulinemia (Zhang et al 1996).

Por ultimo la disminución de la hiperglucemia, aunada a una disminución en la hiperinsulinemia producida por la dexametasona, sugiere que el efecto de la biotina se encuentra relacionado con un aumento en la sensibilidad a la insulina. Actualmente en nuestro laboratorio se están realizando estudios para determinar el mecanismo molecular por el cual se aumenta la sensibilidad a la insulina.

BIBLIOGRAFÍA

Battel ML, Violet GY, Verma S, and McNeill JH (1999) Experimental Models of Diabetes. CRC Press LLC Chapter 10 pp 219-229.

Battell L M., Yuen, V.G., Verma, S. And J.H. McNeill. (1999). Other Models of Type I diabetes. In Experimental Models of diabetes. John H. McNeill. CRC Press LLC. New York. U.S.A. pp 219-229.

Bergmeyer HU y Erich B. (1974). Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer HU Ed pp 1127-1131. Verlag Chemie, Wein.

Brobeck R. (1982). Bases fisiológicas de la práctica médica. Panamericana. México pp.1558.

Brownlee, M. And A. Cerami. (1981). The biochemistry of the Diabetes Mellitus. Ann.Rev Biochem. 50: 385-427.

Bonjour J-P. (1977). Biotin in man's nutrition and therapy-A review. Int. J. Vitamin Nutr Res. 47:107. In The metabolic and molecular bases of inherited disease. Seventh Edition, McGraw Hill, Inc. pp 2083-2101.

Borboni P, Magnaterra R, Rabini RA, Staffolanni R, Porzio O, Sesti G, Fusco A, Bowman B. Barbara and Irwin H. Rosenberg. (1987). Biotin absorption by distal rat intestine. American Institute of Nutrition. 2121-2126.

Bhullar R.P. and Dakshinamurti K. (1985). The effects af biotin on cellular functions in HeLa cells. J. Cell Physiol. 122,425-30.

Castro,M y C. Liceaga.(1999). Complicaciones agudas de la diabetes mellitus. En DIABETES MELLITUS McGraw-Hill Interamericana. pp 448.

Chauhan J and Dakshinamurti K. (1991). Transcriptional regulation of the glucokinase gene by biotin in starved rats. *J. Biol. Chem.* 266(16): 10035-10038

Cauhan, S.P., Perry, K.G. McLaughlin, B N , Roberts, E.E , Sullivan, C.A. and J.C Morrison.(1996). Diabetic ketoacidosis complicating pregnancy. *Journal of Perinatology.* 16(3):173-175.

Coderre L, Vallega GA, Pilch PF, and Chipkin SR. (1996). *In vivo* effects of dexamethasone and sucrose on glucose transport (GLUT-4) protein tissue distribution. *Am. J. Physiol.* 271(4 Pt 1):E643-648.

Coggeshall J., Hegggers J., Robson M. and Baker H. (1985). Biotin status and plasma glucose in diabetics. *Ann. NY Acad. Sci.* 447, 389-392.

Collins, J.C., Paietta, E., Green, R., Morell, A.G. and Stockert, R.J. (1988). Biotin-dependent expression of the asialoglycoprotein receptor in HepG2. *J. Biol. Chem.* 263: 11280-11283.

Combs G.F.Jr. (1994). In *The Vitamins. Fundamental aspects in nutrition and healt.* Academic Press Inc. pp. 329-345.

Cullen, M.T., Reece, A., Homko, C.J. and E. Silvian. (1996). The changing presentations of diabetic ketoacidosis during pregnancy. *American Journal of Perinatology.* 13(7):449-451.

Dakshinamurti K and Mistry SP. (1963a): Tissue and intracellular distribution of biotin C¹⁴OOH in rats and chicks. *J. Biol. Chem.* 238; 294-6.

Dakshinamurti y Mistry SP (1963b). Aminoacid incorporation and biotin deficiency. *J. Biol. Chem.* 238; 297-301

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Dakshinamurti, K. and Cheah-Tan C. (1968a). Liver glucokinase of the biotin deficient rat. *Can. J Biochem.* 46, 75.

Dakshinamurti, K and Cheah-Tan C. (1968b). Biotin mediated synthesis of hepatic glucokinase in rats. *Arch. Biochem. Biophys.* 127, 17-21

Dakshinamurti, K., Modi, V.V., and Mistry, S.P. (1968). Some aspects of carbohydrate metabolism in biotin deficient rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 127, 396-400.

Dakshinamurti, K. and Hong, H.C. (1969). Regulation of key hepatic glycolytic enzymes. *Enzymol. Biol. Clin.* 11:423-428.

Dakshinamurti K., Terrago-Litvak L. And Hong H.C. (1970). Biotin and glucose metabolism. *Can. J. Biochem.* 48:75-80.

Dakshinamurti K., Chalifour L.E. and Buhlar R.P. (1985). Requirement for biotin and the function of biotin in cells in culture. *Annals of New York Acad. of Sci.* 447:38-55.

Dakshinamurti K, Chauhan J. (1994). Biotin-binding proteins. In *Vitamin receptors: Vitamins as ligands in cell communication* Dakshinamurti Ed University of Cambridge Press. pp 201-249.

Dakshinamurti K., Li, W. (1994). Transcriptional regulation of the liver phosphoenolpyruvate carboxykinase by biotin in diabetic rats. *Mol. Cell. Biochem.* 132: 127-132.

Deodhar AD, Mistry SP (1969). Gluconeogenesis in biotin deficiency: in vivo synthesis of pyruvate holocarboxylase in biotin deficient rat liver. *Biochem and Biophys Research Communications* 34(6) 755-759.

Deodhar AD, Mistry SP (1970). Control of glycolysis in biotin deficient rat liver. Life Sci 9:581-588.

Díaz-Zagoya (1988). Bioquímica e inmunología Piensa. México pp.569 vol. II.

Dimitriadis G, Brendan Leighton, Mark parry-billings, Sholmo Sazón, Martín Young, Ulrike Krausse, Samantha Bevan, Terrence Piva, Gerhard Wegener and Eric A. Newsholme. (1997). Effects of glucocorticoid excess on the sensitivity of glucose transport and metabolism to insulin in rat skeletal muscle. Biochemical Journal 321, 707-712.

Donat, M.Y., Gross, D.J., Cerasi, E. and N. Kaiser. (1984). Hyperglycemia-Induced β -Cell Apoptosis in Pancreatic Islets of *Psammomys obesus* During Developmet of Diabetes. Diabetes; 48:738-744.

Eckert R. (1990). Fisiología animal. Interamericana. Madrid. España. pp. 683.

Fernández Mejía Cristina. (1996). Biología molecular de la diabetes mellitus. Revista de Endocrinología y Nutrición 4(3): 55-62.

Field, C.J. and S.C. Butler. (1999). The BB rat: A unique model of human type 1 diabetes. In Experimental Models of Diabetes. John H. McNeill. CRC Press LLC. New York. U.S.A. pp 3-17.

Furukawa Y., Satoh, H., Sakamoto, A., Koisumi, Y., Maebashi, M., Makino, Y., Sato, T., Ito, M., and Kimura S. (1992). Inhibition of insulin secretion and increase of plasma non-esterified fatty acids induced by biotin deficiency in osteogenic disorder Shionogi rats J. Clin. Biochem. Nutr., 12, 201-208.

Greespan et Baxter. (1995). Endocrinología básica y clínica. Manual moderno. México. pp. 947.

Goodman & Gilman. (1996). Las bases farmacológicas de la terapéutica. Mcgraw-Hill. Interamericana. México. pp. 1996 Vol II.

Guyton. (1994). Fisiología y fisiopatología. Interamericana. México. pp.722.

Haffner S, Hazuda HP, Mitchell BD, Patterson JK, and Stern MP. (1991) Increased incidence of type II diabetes mellitus in mexican americans Diabetes Care 14, 102-108.

Hagay, Z.J. (1994). Diabetic ketoacidosis in pregnancy: etiology, pathophysiology and management. Clinical Obstetrics and Gynecology. 37(1)39-49.

Ham, A.W., and D.H. Cormack. (1983). Tratado de histología. Interamericana. México, D.F. pp 1080

Islas, A.S. y M.C.Revilla.(1999). Diabetes mellitus: Concepto y nueva clasificación. En DIABETES MELLITUS. McGraw-Hill Interamericana pp 448.

Islas-Andrade, S. Revilla Monsalve M. C., Escobedo de la Peña, J., Polanco Ana C., Palomino M.A. and A. Feria Velasco. (2000). Streptozotocin and Alloxan in Experimental Diabetes: Comparison of the Two Models in rats. Acta histichem. Cytochem. 33 (3):201-208.

Kalter. H. (1996). Reproductive toxicology in animals with induced and spontaneous diabetes. Reproductive Toxicology. 10(6):417-438.

Koutsikos D, Fourtounas C, Kapetanaki A, Agroyannis B, Tzanatos, Rammos G, Kopelias I, Bosiolis B, Bovoleti O, Darema M, Sallum G. (1996). Ren.Fail.18: 131-137.

- Leter, E.H., Gerling, I.C., and J.C. Flynn. (1999). Spontaneous insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) in non-obese diabetic (NOD) mice: Comparisons with Experimental induced IDDM. In *Experimental Models of diabetes*. John H. McNeill CRC Press LLC. New York. U.S.A. pp 257-294.
- León del Río A., Velásquez A., Vizcaíno G., Robles-Díaz G. and González Noriega A. (1990). Association of pancreatic biotinidase activity and intestinal uptake of biotin and biocytin in hamster and rat. *Ann. Nutr. Metab.* 34:266-272.
- López M.F., Dikkes P., Zurakowski D., Villa-Komaroff, Majzoub JA. (1999). Regulation of hepatic glycogen in the insulin-like growth factor II deficient mouse. *Endocrinology* 140: 1442-1448.
- McIntosh, C.H.S. and R.A. Pederson. (1999). Non-insulin-dependent animal models of diabetes mellitus. In *Experimental Models of Diabetes*. John H. McNeill. CRC Press LLC. New York. U.S.A. pp 337-398.
- Mordes, J.P. and A. A. Rossini. (1981). Animal models of diabetes. *American Journal of Medicine.* 70:353-360.
- Ogawa A., Jonson H. J., Onheda M, McAlister T. C., Inman L, Alam T and Unger H.R. (1992). Roles of insulin Resistance and β -cell dysfunction in Dexamethasone-induced Diabetes. *Journal of Clinical Investigation.* 90:497-504
- Okumura S, Takeda N, Takami K, Yoshino K, Hattori J, Nakashima K, Sugimoto M, Ishimori M, Takami R, and Yasuda K. (1998). Effects of troglitazone on dexamethasone-induced insulin resistance in rats. *Metabolism* 47(3) 351-354.
- Pieber R, Thomas, Daniel T. Stein, Atsushi Ogawa, Tausif Alam, Makoto Onheda, Kay McCorkle, Ling Chen, J. Denis McGarry, and Roger H. Unger. (1993) *Aminin-*

insulin relationships in insulina resistanse with and without diabetic hyperglycemia
American Journal of phisiology 265(3pt1): E446-453.

Pickup, J. and W.S. Goseth. (1997) The hormonal and neural control of endocrine pancreatic function. In Textbook of diabetes. Volume I Blackwell Science 9.1-9.17.

Pickup, J. and W.S. Goseth. (1997). The biosíntesis and secretion of insulin. In textbook of Diabetes. Volume I. Blackwell Science. 8.1-8-13.

Rann.1989. Bioquímica. Interamericana. España. pp. 1105 Vol. 2.

Reddi A, DeAngelis B, Frank O, Lasker N, Baker H (1988). Biotin supplementation improves glucose and insulin tolerances in genetically diabetic KK mice. Life Sci. 42:1323-1330.

Rhoades R.A. y Taner A.G.(1997). Fisiología médica. Masson. Barcelona. España. pp. 974.

Rodríguez. C. (1995). Vademécum Académico de Medicamentos. McGraw-Hill. México. pp 885.

Ronald K and Gordon C. (1994). Jolin's diabetes mellitus. Lea & Febiger. U.S.A.pp. 1068.

Romero Navarro J. M.(2000). Efecto de la biotina sobre la actividad y expresión del gen de la glucocinasa pancreática. Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias, U.N.A.M pp 52.

Romero-Navarro G, Gabriela Cabrera-Valladares, Michael S. German, Franz M. Matschinsky, Juehu Wang, Cristina Fernandez-Mejia. (1999). Biotin regulation of

pancreatic glucokinase and Insulin in primary cultured rat islets and in biotin deficient rats. *Endocrinology*. 140 (10); 4595-4600.

Mcneill J.H. (1999). LLC. Experimental models of diabetes. U.S.A. pp.418

Rosen O.M., Smith C.J., Hirsch A., Lai E. and Rubin C.S. (1979). Recent studies of the 3t3-l1 adipocyte-like line. *Recent Prog. Horm. Res.* 35,477-99.

Salatiel AR y Olefky J. (1996). Tiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type 2 diabetes. *Diabetes*. 45; 1661-1669.

Said M Hamid. (1991). Movement of biotin across the rat intestinal basolateral membrane studies with membrane vesicles. *Biochem. J.* 279: 671-674.

Shils M.E. et al. (1999). *Modern Nutrition in Health and Disease*. Williams & Wilkins. Chapter 28 pp 459-466.

Schmidt R.F. (1993). *Fisiología humana*. Interamericana. España. pp. 906.

Smith and Reynard. (1993). *Farmacología*. Panamericana. Buenos Aires. Argentina. pp. 1135.

Slack, J.W.M. (1995). Developmental biology of the pancreas. *Development*. 121:1569-1580.

Spence, J.T. and Koudelka, A.P. (1984). Effects of biotin upon the intracellular level of cGMP and the activity of glucokinase in cultured rat hepatocytes. *J. Bio. Chem.* 259:6393-6396.

Stockert RJ, Morell AG. (1990). Second messenger modulation of the asialoglycoprotein receptor. *J. Biol. Chem.* 265; 1841-1846.

- Stockert RJ, Ren Q. (1997). Cytoplasmic protein mRNA interaction mediates cGMP-modulated transcriptional control of the asialoglycoprotein receptor. *J. Biol. Chem.* 272: 9161-9165.
- Stojanovska J, Rosella G, and Proietto J (1990). Evolution of dexamethasone-induced insulin resistance in rats. *Am. Phys. Soc.* E748-756.
- St-Onge, L, Wehr, E., and P. Gruss. (1999). Pancreas development and diabetes. *Current Opinión in Genetics & Development.* 9:295-300.
- Sylbulsky, S. and G.B. Maughan. (1971) Use of Streptozotocin as Diabetic Agent in Pregnant Rats. *Endocrinology*; 89:1537-1540.
- Venkatesan N, Lim J, Bouch C, Marciano D, Davidson MB. (1996). Dexamethasone-induced impairment in skeletal muscle glucose transport is not reversed by inhibition of free fatty acid oxidation. *Metabolism* 45 92-100.
- Vesely DL(1982). Biotin enhances guanylate cyclase activity. *Science* 216, 1329-1330.
- Watanabe T. (1983). Teratogenic effect of biotin deficiency in mice. *J. Nutr.* 113,574-81.
- Weisntein SP, Holand A, O'Boyle E, Haber RS.(1993). Effects of thiazolidinediones on glucocorticoid-induced insulin resistance and Glut 4 glucose transporter expresión in rat skeletal muscle. *Metabolism* :42 (10) 1365-1369.
- West B. 1998. Bases fisiológicas de la práctica médica. Panamericana. México. pp. 1408.

Wolf B. and Heard G.S. (1995). Disorders of biotin metabolism Scriver C R.,Beaudet A.L.,Sly W.S., Valle D., Stanbury J.B.,Wyngaarden J.B. and Fredrickson D.S. (1995). In The metabolic and molecular bases of inherited disease Seventh Edition, McGraw Hill, inc. pp. 2083-2101.

Zhang H, Osada K, Sone H, Furukawa (1997). Biotin administration improves the impaired glucose tolerance on streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. J. Nutr . Sci. Vitaminol. 43: 271-280.