



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARIA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

“TITULO DE TESIS”

LA SENSIBILIDAD A LA INSULINA ESTA INVERSAMENTE RELACIONADA AL
ESTATUS ENERGETICO CELULAR, COMO REVELA LA DEFICIENCIA DE
BIOTINA

TESIS

PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN PEDIATRIA

PRESENTA:

DRA. ANA LOURDES SALVADOR ADRIANO

TUTOR:

DR. ANTONIO VELAZQUEZ ARELLANO





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.

LA SENSIBILIDAD A LA INSULINA ESTA INVERSAMENTE RELACIONADA AL
ESTATUS ENERGETICO CELULAR, COMO REVELA LA DEFICIENCIA DE
BIOTINA

Dr. Alejandro Serrano Sierra
Profesor Alejandro Serrano Sierra
Especialidad de Pediatría

Dra. Rosaura Rosas Vargas
Directora de Enseñanza

Dr. Manuel Enrique Flores Landero
Jefe del Departamento de Pre y Posgrado

Dr. Antonio Velazquez Arellano
Tutor de Tesis

INDICE

TITULO.....	5
AUTORES.....	5
INTRODUCCION.....	5
ANTECEDENTES.....	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	10
PREGUNTA DE INVESTIGACION.....	10
JUSTIFICACION.....	10
OBJETIVOS.....	10
HIPOTESIS.....	11
CLASIFICACION DE LA INVESTIGACION.....	11
MATERIALES Y METODOS.....	11
RATAS.....	11
PRUEBAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA.....	12
PRUEBA DE SENSIBILIDAD A LA INSULINA.....	13
LIBERACION DE INSULINA.....	13
CLAMPS HIPERINSULINEMICOS-EUGLICEMICOS.....	13
ANALISIS DE DATOS.....	14
RESULTADOS.....	15
CURVAS DE TOLERANCIA ORAL E INTRAPERITONEAL A LA GLUCOSA.....	16

PRUEBA DE SENSIBILIDAD INTRAPERITONEAL A LA INSULINA.....	18
CONCENTRACION PLASMATICA DE INSULINA.....	20
CLAMPS HIPERINSULINEMICOS-EUGLICEMICOS.....	21
DISCUSIÓN.....	22
CONCLUSIONES.....	22
BIBLIOGRAFIA.....	25

TÍTULO

LA SENSIBILIDAD A LA INSULINA ESTA INVERSAMENTE RELACIONADA AL ESTATUS ENERGETICO CELULAR, COMO REVELA LA DEFICIENCIA DE BIOTINA

AUTORES

Presenta: Dra Salvador Adriano Ana Lourdes

Tutor de tesis: Dr Velazquez Arellano Antonio

INTRODUCCION

Antecedentes

La biotina es una vitamina hidrosoluble que actúa como cofactor de las cuatro enzimas que integran el grupo de las carboxilasas que catalizan pasos cruciales en el metabolismo del carbono^{1 2}. La piruvato carboxilasa (PC) es una enzima de tipo ligasa que cataliza la carboxilación de piruvato para formar oxaloacetato³ (OAA). Esta es una reacción crucial en el metabolismo intermedio porque (1) es la fuente principal de anaplerosis para el ciclo de los ácidos tricarboxílicos; (2) la formación de OAA a partir de piruvato es el primer punto limitante al inicio de la vía de la gluconeogénesis; (3) provee de carbono a través de citrato, para la síntesis de ácidos grasos. La acetil-CoA carboxilasa (ACC) cataliza la carboxilación de acetil-CoA en la vía de síntesis de ácidos grasos, para producir malonil-CoA, compuesto que además actúa como inhibidor de la β -oxidación⁴. La propionil-CoA carboxilasa (PCC) y la metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC) participan en el

catabolismo de aminoácidos, y la PCC participa también en la anaplerosis y en el catabolismo de ácidos grasos de cadena impar⁵.

Además, la biotina tiene efectos sobre la expresión de diversos genes del metabolismo del carbono⁶, no relacionados con su función como grupo prostético de las carboxilasas, cuyo mecanismo no es bien conocido. Existen resultados, aún de carácter preliminar, que indican que en la BtDef hay cambios en los flujos de vías del metabolismo intermedio, tales como la glucólisis y el ciclo de los ácidos tricarbóxicos. A este respecto, recientemente se encontró que en etapas tempranas de deficiencia de biotina (BtDef) en ratas, disminuyen las concentraciones postprandiales de glucosa en sangre, sin modificar las de insulina sérica⁷. Esto fue interpretado como aumento de la sensibilidad a insulina en la BtDef. Este resultado concuerda con reportes de aumento en la sensibilidad a esta hormona en la carencia de otros nutrientes indispensables como la leucina⁸ y los ácidos grasos esenciales⁹.

La insulina es una hormona polipeptídica formada por 51 aminoácidos, producida y secretada por las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas. Esta integra el metabolismo del cuerpo tanto en periodos de ayuno como durante la alimentación. Cuando un individuo está en ayuno las células beta del páncreas secretan menos insulina. Cuando los niveles de insulina disminuyen, los lípidos son movilizados desde el tejido adiposo y los aminoácidos son movilizados desde zonas de almacenamiento de proteínas del cuerpo, como músculo y otros tejidos. Estos lípidos y aminoácidos proveen combustible para la oxidación y sirven como precursores para la cetogénesis y gluconeogénesis hepática. Durante la

alimentación la secreción de insulina aumenta. Niveles elevados de insulina disminuyen la movilización de fuentes de energía endógenos y estimula la absorción de carbohidratos, lípidos y aminoácidos por tejidos insulino-sensitivos específicos. De esta manera, la insulina hace que los tejidos reagan las reservas de energía que se usaron durante los periodos de ayuno.

Por otra parte se ha descubierto que la deficiencia de micro nutrientes como son la biotina, la leucina y los ácidos grasos esenciales en etapas tempranas del desarrollo en modelos murinos condicionan cambios en el equilibrio energético de la célula. Estudios sobre deficiencia de biotina revelan que en etapas tempranas esta se traduce en aumento a la sensibilidad a la insulina y mayor aprovechamiento de glucosa. Al revertir la deficiencia en estos mismos se encontró que la tolerancia a la glucosa disminuyó encontrándose aumento en el pico glicémico durante la realización de curvas de tolerancia a la glucosa.

JUSTIFICACIÓN

A pesar de múltiples intentos por mejorar el estado nutricional en el país aun se reportan cifras elevadas de desnutrición junto con el surgimiento de enfermedades secundarias a un exceso energético como el síndrome metabólico, diabetes y obesidad¹⁰. Trabajos hechos en otras poblaciones sugieren que la deficiencia de biotina subclínica es una entidad más común de lo pensado, existen reportes en los cuales hasta en un tercio de la población gestante se encontraba deficiencia subclínica de biotina en el último trimestre de embarazo¹¹. Así mismo estudios

indican que el ambiente energético/nutricional al cual se ve expuesto el producto durante la gestación afecta su metabolismo de adulto¹².

Reportes indican que el microambiente del feto durante la gestación es un factor importante para determinar la expresión de genes los cuales determinan la respuesta del organismo. Ejemplo de esto son los estudios realizados en la población holandesa que fue expuesta a la hambrina de 1944. En estos estudios se demuestra que la exposición *in útero* a restricción calórica predisponía a las personas a ser más propensas de padecer enfermedades metabólicas en la edad adulta. En otros estudios se demuestra que esto es debido a cambios en la metilación de genes específicos relacionados con el metabolismo de la glucosa.

La diabetes mellitus, durante mucho tiempo considerada una enfermedad de poca significancia para la salud mundial, esta posicionándose como uno de las principales amenazas para la salud en el siglo 21. En las últimas dos décadas se ha observado un aumento en el número de personas que son diagnosticadas con diabetes en el mundo. Cambios en el ambiente, y en el comportamiento y estilo de vida que acompañan a la globalización han tenido como resultado las cifras en crecimiento de la obesidad y diabetes. .

Existen dos formas principales de diabetes. La diabetes tipo 1 es debida principalmente a la destrucción de las células beta pancreática mediada por anticuerpos, resultando en una deficiencia de insulina absoluta. Las personas con diabetes tipo 1 deben de administrarse insulina exógena parara prevenir el desarrollo de cetoacidosis y así sobrevivir. Su frecuencia es relativamente baja en

comparación con la diabetes tipo 2, que es la causa del 90% de los casos de diabetes en el mundo. La diabetes tipo 2 se caracteriza por resistencia a la insulina (IR) y/o secreción anormal de insulina. Las personas con diabetes tipo 2 no son dependientes de insulina exógena, pero pueden requerir su administración para el control de la glucemia si esta no es lograda con dieta o agentes hipoglucemiantes orales.

La Diabetes mellitus afecta aproximadamente 17 millones de personas en Estados Unidos (90 por ciento al 95 por ciento de los cuales tienen diabetes tipo 2). 11,1 millones han sido diagnosticados, pero 5,9 millones desconocen que tienen la enfermedad. Según las estadísticas más recientes, la diabetes fue la sexta causa principal de muerte y la quinta causa principal de muerte debido a una enfermedad. La diabetes contribuyó a más de 200.000 muertes en 1999, pero se cree que la diabetes no siempre se reporta en los certificados de defunción; como enfermedad y como causa de muerte. La diabetes cuesta 90.000 millones de dólares anualmente en gastos médicos directos. La diabetes cuesta 40.000 millones de dólares anualmente en gastos indirectos (pérdida del trabajo, incapacidad, pérdida de la vida).

Por lo anterior, se propone que la deficiencia de biotina pudo haber aumentado la sensibilidad a la insulina con el consecuente incremento de la captación de glucosa por los tejidos adiposo y muscular.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los nutrimentos esenciales son parte de la maquinaria metabólica para poder producir energía, existen aproximaciones poblacionales acerca de las repercusiones del déficit nutricional intra útero, sin embargo no existen estudios en específico sobre la deficiencia de nutrimentos aislada durante la etapa fetal, en este caso la biotina, por lo que es de relevancia ante la salud pública el investigar las consecuencias metabólicas de la deficiencia de biotina.

Por la incapacidad de realizar estudios seriados y experimentales en seres humanos, se propone el modelo murino como óptimo para el estudio de la deficiencia de biotina, ya que, a pesar de desarrollar la deficiencia de biotina fuera del ambiente uterino, el metabolismo de la rata y la organogénesis, en especial el desarrollo del páncreas, continúa hasta las 6 semanas^{13 14 15} por lo que los cambios observados pueden ser extrapolables a la deficiencia de biotina in utero de los humanos.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué efecto tiene sobre la insensibilidad a la insulina la carencia de un nutrimento esencial como la biotina?

OBJETIVO

Determinar el efecto de la deficiencia de biotina sobre la sensibilidad a la insulina.

HIPOTESIS

La biotina participa en la regulación de la sensibilidad a insulina, por lo que su deficiencia induce cambios en la sensibilidad a esta hormona

CLASIFICACION DE LA INVESTICACION

Experimental, prospectivo, longitudinal y analítico.

MATERIALES Y METODOS

Por la incapacidad de realizar estudios seriados y experimentales en seres humanos, se propone el modelo murino como óptimo para el estudio de la deficiencia de biotina, ya que, a pesar de desarrollar la deficiencia de biotina fuera del ambiente uterino, el metabolismo de la rata y la organogénesis, en especial el desarrollo del páncreas, continúa hasta las 6 semanas por lo que los cambios observados pueden ser extrapolables a la deficiencia de biotina in utero de los humanos.

Ratas

Se usaron ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) macho de 3 semanas de edad. Los animales se distribuyeron en dos grupos: 10 ratas se hicieron BtDef y 10 ratas de similar peso (50 ± 5 g) se utilizaron como control (suficientes de biotina). La deficiencia de biotina se indujo con dieta comercial deficiente de biotina que contiene 30% de clara de huevo como fuente de avidina, una glicoproteína que se une a la biotina formando un compuesto que no es absorbido en el intestino por lo que se impide la absorción de biotina. Los animales control se alimentaron con la

misma dieta suplementada con 4 mg de biotina por kg , esto es, la cantidad de biotina que se une a la avidina, mas 4mg de biotina que escapa a la avidina y que cubre los requerimientos diarios de las ratas,¹⁶. Cada rata se colocó de manera individual en jaulas con ciclo luz / oscuridad de 12 h y con acceso libre de agua y alimento y se le dio seguimiento al peso y consumo de alimento de las ratas durante las semanas de experimentación. Los animales fueron manipulados de acuerdo a las Guías para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio de los National Institutes of Health (National Academy of Sciences, Washington, D.C., USA, 1996). El comité de ética para experimentación del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México aprobó todos los métodos usados en este estudio.

Pruebas de tolerancia a la glucosa

Para determinar la tolerancia a la glucosa (TG) se realizaron curvas de tolerancia oral e intraperitoneal (OGTT e IPGTT respectivamente) en las ratas control y BtDef. Se evaluó la TG a las 2, 3, 4 y 5 semanas de tratamiento (n=20). Dado que la deficiencia de biotina produce inflamación en distintos epitelios y para eliminar diferencias en la capacidad de absorción del epitelio intestinal se procedió a evaluar la tolerancia a la glucosa vía peritoneal, evitando así un sesgo metodológico. Se administró glucosa de manera oral o intraperitoneal (2 g/kg) en ratas despiertas con ayuno de 12 horas. Se midió la glicemia a los 0, 15, 30, 60, 90 y 120 min posteriores a la administración con un glucómetro portátil¹⁷ (Accu-Chek Perfoma Roche®). Las muestras se analizaron por triplicado.

Prueba de sensibilidad a la insulina

La prueba de sensibilidad a la insulina se realizó en las ratas controles y BtDef a las 2, 3, 4 y 5 semanas de tratamiento. Para esto se inyectó de manera intraperitoneal 0.5 UI de insulina/kg con 3 horas de ayuno¹². Se midió la glicemia a los 0, 15, 30, 60, 90 y 120 min posteriores a la inyección con un glucómetro portátil (Accu-Chek Perfoma Roche®). Las muestras se analizaron por triplicado.

Liberación de insulina

Para determinar la liberación de insulina posterior a la administración intraperitoneal de solución de glucosa (2g/kg) se obtuvieron muestras de sangre de la cola en capilares heparinizados de ratas con 12 horas de ayuno y 4 semanas de tratamiento a los 0, 15, 30, 60 y 120 min. Las muestras se centrifugaron a 2 500 rpm por 15 min, se recuperó el plasma y se almacenó a -70 °C. La concentración de insulina se determinó mediante inmunoensayo tipo ELISA. La absorbancia se midió a 450 nm en un lector de placas (Labsystems Multiskan MS, Labsystems®, Helsinki, Finlandia). Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

Clamps hiperinsulinémicos-euglicémicos

Los clamps hiperinsulinémicos-euglicémicos se realizaron en ratas despiertas, sin anestesia, sin restricciones de movimiento y cateterizadas una semana antes en la arteria carótida izquierda y en la vena yugular derecha. Las ratas procedieron a recuperación y fueron estudiadas solamente si el peso de la rata excedió el 95% de su peso previo a la cirugía. Se dejaron en ayuno por 8 h y se realizó una

infusión continua de insulina (2.5 mUI/kg·min) para aumentar los niveles plasmáticos de insulina. Posteriormente se inició la infusión de glucosa (25% m/v) y, de manera periódica, se ajustó la velocidad de infusión de glucosa para mantenerla en niveles basales (80-120mg/dl), mientras que se continuaba con la infusión de insulina constante. La concentración de glucosa se determinó cada 5 min con un glucómetro portátil (Accu-Chek Perfoma Roche®). Para el cálculo de la tasa de infusión de glucosa (GIR) se tomaron los valores entre los tiempos de 60 a 120 min del experimento, cuando las respuestas alcanzaron un estado de euglicemia¹⁸.

ANÁLISIS DE DATOS

Los datos se sometieron al análisis de la varianza y donde hubo diferencias se aplicó la estadística de Tukey ($p < 0.05$)

RESULTADOS

Durante el periodo de administración de la dieta (5 semanas) se midió el peso corporal y el consumo de alimento de cada animal. Como se muestra en la figura 1a, no se observaron diferencias en la ganancia de peso ni en el consumo de alimento (Figura 1b) entre el grupo BtDef y el grupo control.

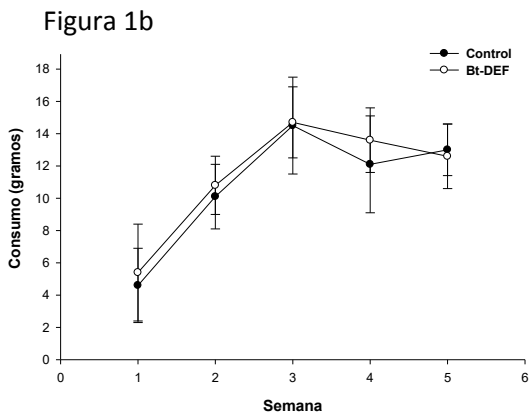
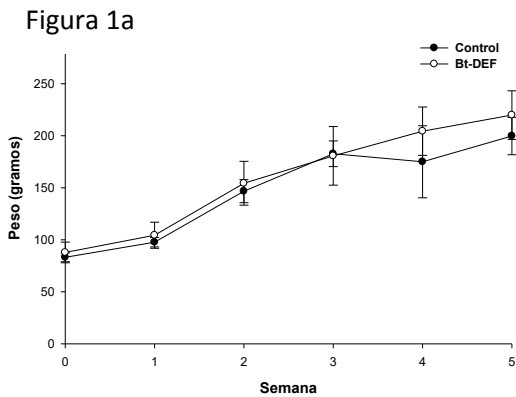
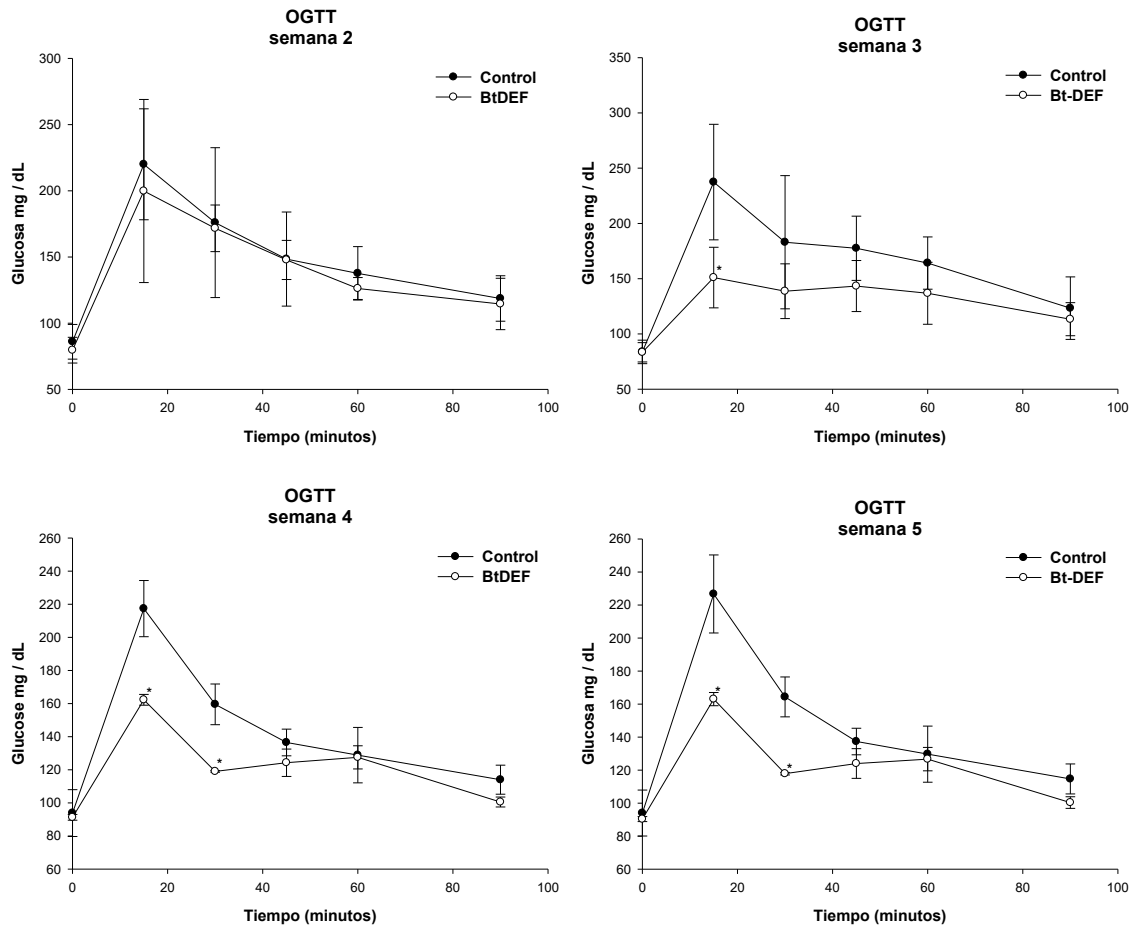


Figura 1. Peso (a) y consumo de alimento (b) de las Ratas control y BtDef durante las 5 semanas de tratamiento. Los datos son medias de 10 repeticiones.

Curva de tolerancia oral e intraperitoneal a la glucosa

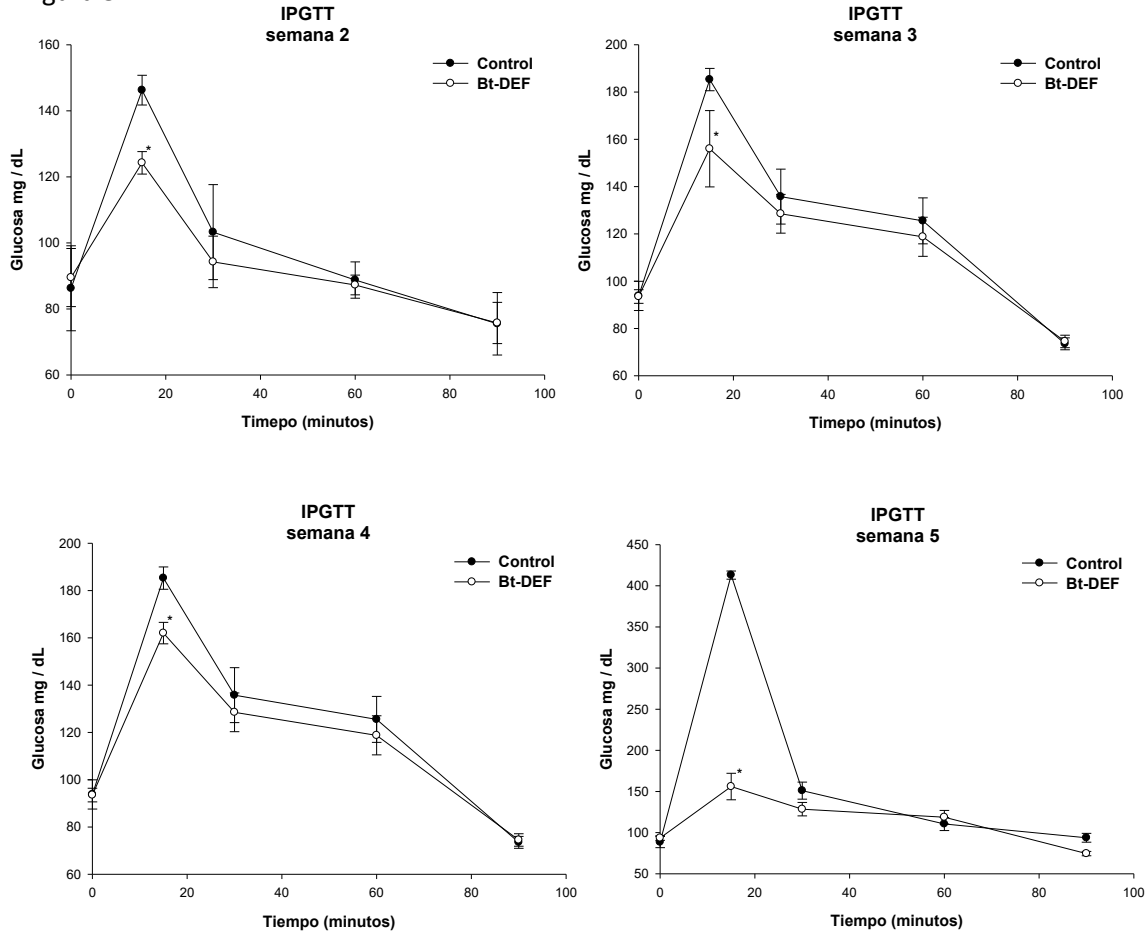
En la curva de tolerancia oral a la glucosa se observó que, comparado con los controles, las ratas deficientes de biotina presentaron concentraciones de glucosa sérica significativamente menores ($p < 0.05$) a partir de la tercera semana de administración de la dieta deficiente, siendo la diferencia mayor a la quinta semana de experimentación (Figura 2). En las ratas deficientes a las que se le realizó la IPGTT se observaron menores niveles de glucosa capilar a partir de la segunda semana de administración de la dieta en comparación con las ratas control que se sometieron al mismo estudio ($p < 0.05$) siendo más evidente en la semana 4 y 5 de tratamiento (Figura 3). Los valores relativos de glucosa y el área bajo la curva fueron concordantes con lo observado respecto a la habilidad para reducir las concentraciones séricas de glucosa en respuesta a la administración de glucosa.

Figura 2



OGTT de ratas control y BtDef a las 2, 3, 4, y 5 semanas de tratamiento * = p < 0.05

Figura 3

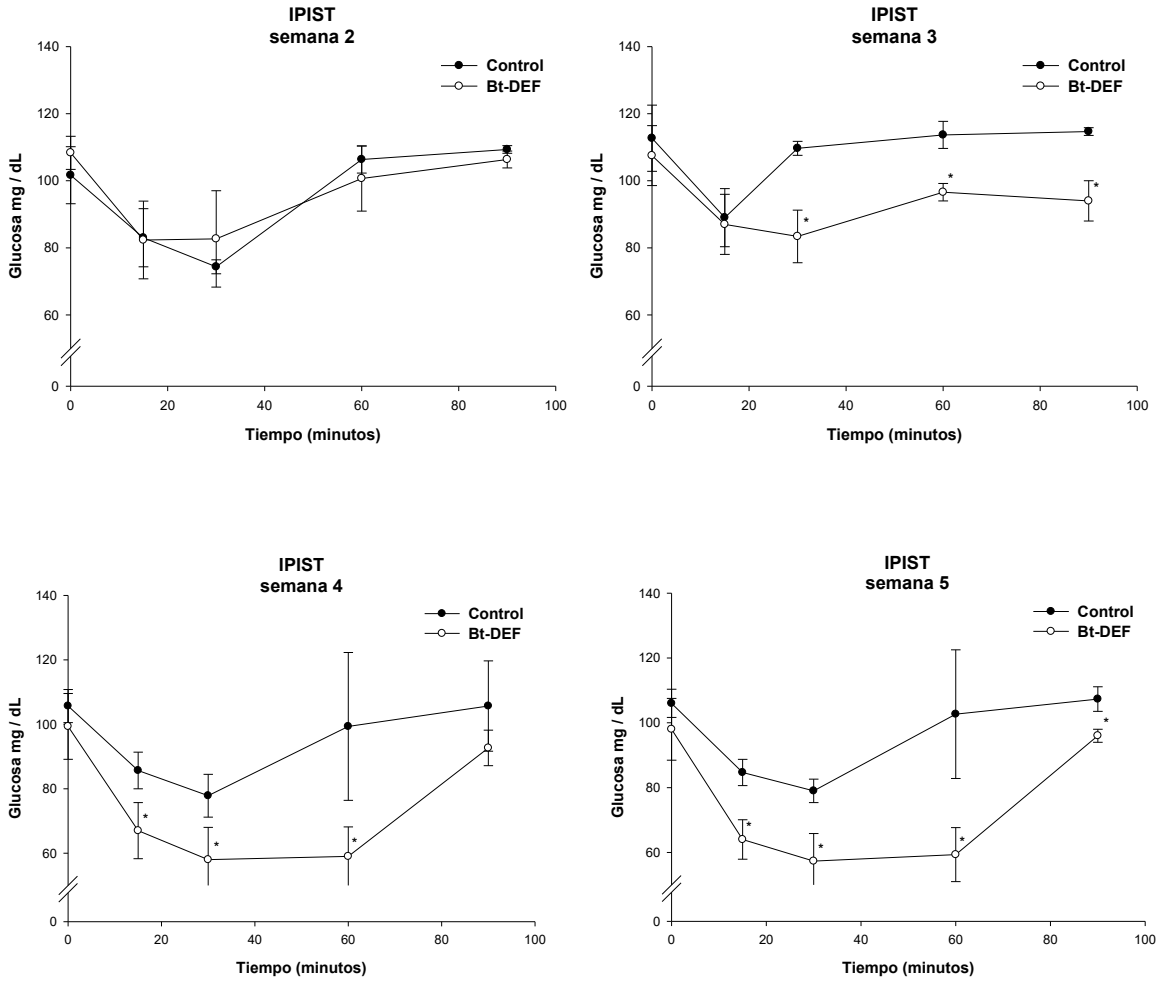


IPGTT de ratas control y BtDef a las 2, 3, 4, y 5 semanas de tratamiento * = p < 0.05

Prueba de sensibilidad intraperitoneal a la insulina

La prueba de sensibilidad a la insulina reveló que, en el grupo deficiente los valores de glucosa capilar disminuyeron en 34.6% en el minuto 15 y 41.5% en el minuto 30 en la semana 4 de tratamiento. En contraste, las ratas control mostraron menor respuesta en la semana 4 (disminución de 20.1% en el minuto 15 y 25.5% en el minuto 30; p < 0.05) (Figura 4) lo cual se refleja en el área bajo la curva de la prueba.

Figura 4

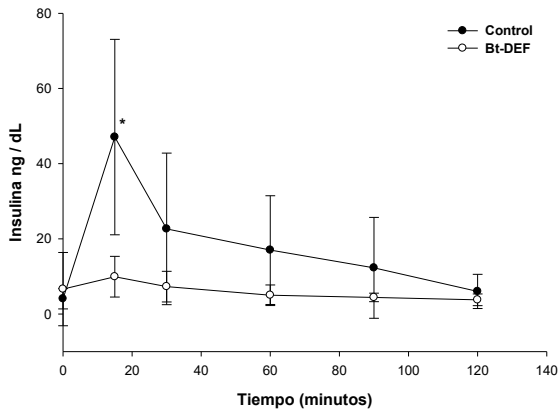


IPIST de ratas control y deficientes a las 2,3,4 y 5 semanas de tratamiento *= p<0.05

Concentración plasmática de insulina

La concentración de insulina en sangre, determinada a las 4 semanas de tratamiento, posterior a la administración de glucosa, reveló menor cantidad de insulina a los 15 y 30 minutos de la prueba en las ratas BtDef en comparación a los controles ($p < 0.05$) (figura 5), no encontrando diferencias significativas en las determinaciones durante el ayuno, ni durante las dos semanas previas.

Figura 5

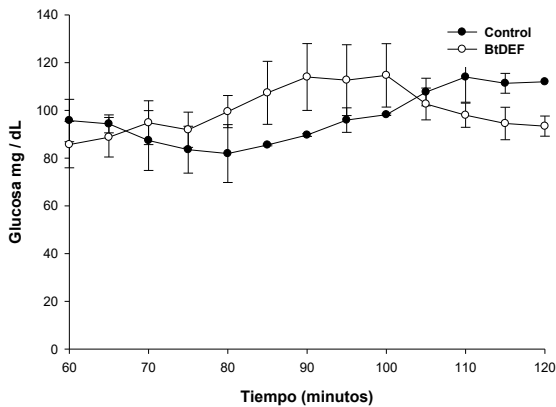


Concentración plasmática de insulina durante la IPGTT en ratas control y deficientes de biotina a las 4 semanas de tratamiento. $*=p<0.05$

Clamps hiperinsulinémicos-euglicémicos.

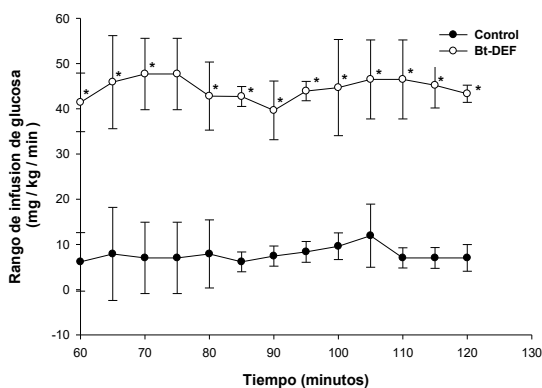
Durante la realización de los clamps hiperinsulinémicos-euglicémicos se obtuvieron concentraciones estables de glucosa plasmática a lo largo de la segunda fase del clamp, donde ambos grupos de tratamiento tuvieron valores similares (Figura 6). El coeficiente de variación en la glucosa plasmática fue $<10\%$ en ambos grupos. En las ratas BtDef se necesitó una mayor tasa de infusión de glucosa ($>70\%$ $p<0.01$) que en las controles para mantener los niveles de euglicemia (figura 7).

Figura 6



Concentración de glucosa plasmática durante los últimos 60 minutos del clamp.

Figura 7



Rango de Infusión de glucosa de Ratas controles y deficientes con 4 semanas de administración de la dieta en los últimos 60 minutos del clamp *= $p < 0.01$

DISCUSIÓN

Las concentraciones de glucosa en sangre más bajas y duraderas en ratas BtDef en las pruebas de tolerancia a la glucosa por vía oral pueden no estar relacionadas con una mal absorción intestinal de glucosa secundaria a la inflamación de mucosas¹⁹, ya que se obtuvieron resultados similares con la IPGTT. Otros mecanismos que podrían explicar los menores niveles de glucosa en sangre en las ratas BtDef son el aumento en la internalización de glucosa, que a su vez pudiera deberse a una mayor respuesta a la insulina o a una mayor secreción de esta hormona con un mismo estímulo. Esta hipótesis fue evaluada con la IPIST observándose un mayor descenso en la glucosa plasmática en las ratas BtDef que en las control ante el mismo estímulo, lo cual indirectamente señalaba que las respuestas aumentadas que se observaron durante las pruebas de tolerancia a la glucosa no eran consecuencia de una mayor liberación de insulina, si no de una mayor respuesta a ésta. La realización de clamps

hiperinsulinémicos-euglicémicos (“estándar de oro” para determinar sensibilidad a la insulina²⁰) indican que existe mayor sensibilidad a la insulina en las ratas BtDef, ya que en este estudio se eliminan variables como reguladores endógenos (somatostatina²¹, noradrenalina²²), peso²³ y estrés²⁴. Con estos resultados se procedió a cuantificar la insulina plasmática observándose menor concentración de insulina plasmática en el minuto 15 y 30 después de administrar glucosa en los animales BtDef. Esto refuerza la conclusión que en la deficiencia de biotina está aumentada la sensibilidad a insulina, probablemente por aumento de la captación de glucosa por tejidos como el adiposo y el muscular.

Una posible explicación de las observaciones anteriores es que la activación de AMPK pudo haber contribuido a la disminución temprana de la glucemia. Varios estudios reportan que la elevación de AMPK promueve la traslocación del transportador de glucosa GLUT 4 a la membrana celular del tejido adiposo y muscular^{25 26}, aumentando de esta manera la utilización de glucosa. La disminución tardía de la insulina sérica observada en el trabajo anterior, puede ser resultado de un retraso de los efectos de la deficiencia de biotina sobre la disminución de la producción/secreción de insulina por las células pancreáticas; este efecto se ha observado en la activación crónica de AMPK²⁷ y en la disminución de la actividad de la PC²⁸ ambos cambios vistos en la BtDef.

En trabajos previos⁷ se estudiaron de manera longitudinal los cambios en los niveles sanguíneos de la glucosa y la insulina postprandial en ratas deficientes de biotina a las 4 semanas de estar recibiendo una dieta deficiente de esta vitamina, antes de que presentaran signos de desnutrición como disminución de peso y de consumo de alimentos, o signos característicos de la deficiencia de biotina como pérdida de pelo e inflamación de las mucosas. Los resultados mostraron un descenso muy temprano en los niveles de glucosa, desde la segunda semana de administración de la dieta, al mismo tiempo que una disminución significativa de la actividad de las carboxilasas, déficit de ATP, estimulación del sensor de estrés energético AMPK y cambios en la expresión de genes del metabolismo del carbono²⁹. En cambio, fue hasta la cuarta y quinta semana de administración de la dieta, justo antes de que apareciesen diferencias de pesos entre los grupos control y deficiente, cuando los niveles de insulina en plasma comenzaron a disminuir. Dichos resultados se interpretaron como posiblemente debidos a un aumento en la sensibilidad a insulina, que quedó demostrada en el presente trabajo. Esos resultados fueron novedosos porque estudios previos de deficiencia de biotina^{30,31,32,33,34} fueron realizados con ratas alimentadas por 8 o más semanas con dieta deficiente de biotina, cuando ya los animales presentan signos de la deficiencia de biotina y se encontraban enfermos, presentando también desnutrición energético-proteica.

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo, además de demostrar que la mayor sensibilidad a insulina en la BtDEF, plantean la posibilidad de que en estados de estrés energético, como la deficiencia de biotina, existan mecanismos compensatorios no canónicos que sean independientes de insulina.

Es interesante, y aumenta la potencial importancia de este estudio, los hallazgos en voluntarios humanos que se sometieron a deficiencia de biotina experimental³⁵. Además, varias de las consecuencias metabólicas y genómicas de la deficiencia de biotina pueden no ser exclusivas de esta vitamina, si no de adaptaciones generales que mitigan la deficiencia de nutrientes esenciales^{8 9}.

Podría plantearse como posibilidad de extensión de este estudio la valoración nutricional de mujeres gestantes y sus productos, así como el seguimiento a largo plazo de estos últimos para valorar el estatus metabólico y su evolución a lo largo de los años.

BIBLIOGRAFÍA

¹ Rodriguez-Melendez R, Cano S, Mendez ST, Velazquez A: Biotin regulates the genetic expression of holocarboxylase synthetase and mitochondrial carboxylases in rats (2001). *J Nutr*; 131: 1909–1913.

² Lynen F: The role of biotin-dependent carboxylations in biosynthetic reactions.(1967) *Biochem J*; 102: 381–400.

³ Wallace JC, Jitrapakdee S, Chapman-Smith A (1998) Pyruvate carboxylase.. *Int J Biochem Cell Biol. Jan*;30(1):1-5. Review.

⁴ Tong, L. and Harwood, H. J. (2006), Acetyl-coenzyme A carboxylases: Versatile targets for drug discovery. *J. Cell. Biochem.*, 99: 1476–1488. doi: 10.1002/jcb.21077

⁵Rodríguez-Meléndez R, Pérez-Andrade ME, Díaz A et al. (1999) Differential effects of biotin deficiency and replenishment on rat liver pyruvate and propionyl-CoA carboxylases and on their mRNAs. *Mol Genet Metab.* 1999 Jan;66(1):16-23.

⁶ Chauhan J, Dakshinamurti K (1991) Transcriptional regulation of the glucokinase gene by biotin in starved rats. *J Biol Chem*; 266:10035–10038.

⁷ A. Hernández-Vázquez A, Ochoa-Ruiz E, Ibarra-González I, Ortega-Cuellar D, Salvador-Adriano A, Velázquez-Arellano A (2012) Temporal development of genetic and metabolic effects of biotin deprivation. A search for the optimum time to study a vitamin deficiency. *Mol Genet Metab.* Nov;107(3):345-51.

⁸. Xiao F, Huang Z, Li H, Yu J et al. (2011) Leucine deprivation increases hepatic insulin sensitivity via GCN2/mTOR/S6K1 and AMPK pathways. *Diabetes.* Mar;60(3):746-56

⁹ Simopoulos AP. (1994) Is insulin resistance influenced by dietary linoleic acid and trans fatty acids? *Free Radic Biol Med.* Oct;17(4):367-72.

¹⁰ Rivera, Juan; Shamah, Teresa (2007) Análisis crítico de la evolución de la mala nutrición durante las últimas décadas en México: resultados de niños *Salud Pública de México*, vol. 49, pp. 267-269

¹¹ Donald M Mock, J Gerald Quirk, and Nell I Mock (2007) Marginal biotin deficiency during normal pregnancy *Am J Clin Nutr.* 2002 Feb; 75(2): 295–299.

¹² Bouchard C. (2008) Gene-environment interactions in the etiology of obesity: defining the fundamentals. *Obesity* 2008;16 Suppl 3:S5-10.

¹³ R. L. Hole, M. C. Pian-Smith, G. W. Sharp (1988) *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* Published 1 February **Vol.** 254 **no.** 2, E167-E174

¹⁴ Apoptosis Participates in the Remodeling of the Endocrine Pancreas in the Neonatal Rat (1997) L. Scaglia, C. J. Cahill, D. T. Finegood, and S. Bonner-Weir *Endocrinology*138:4,

¹⁵ Hue-lee Cheng Kaung (1994) **Growth dynamics of pancreatic islet cell populations during fetal and neonatal development of the rat** *Developmental Dynamics* **Vol 200, Issue 2, pages 163–175**

¹⁶.Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* Nov;123(11):1939-51

¹⁷ Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. (2008) Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage *Am J Physiol Endocrinol Metab.* Jan;294(1):E15-26..

-
- ¹⁸ Heikkinen, S., Argmann, C. A., Champy, M.-F. and Auwerx, J. 2007. Evaluation of Glucose Homeostasis. *Current Protocols in Molecular Biology*. 77:29B.3.1–29B.3.22.
- ¹⁹ Mock DM. (1991) Skin manifestations of biotin deficiency. *Semin Dermatol*. Dec;10(4):296-302
- ²⁰ Ayala JE, Bracy DP, Malabanan C, James FD et al. (2011) Hyperinsulinemic-euglycemic clamps in conscious, unrestrained mice. *J Vis Exp*. 57:e3188
- ²¹ Schmid HA, Brueggen J. (2010) Effects of somatostatin analogs on glucose homeostasis in rats. *J Endocrinol*. Jan;212(1):49-60.
- ²² Shimizu Y, Satoh S, Yano H, Minokoshi Y, Cushman SW, Shimazu T. (1998) Effects of noradrenaline on the cell-surface glucose transporters in cultured brown adipocytes: novel mechanism for selective activation of GLUT1 glucose transporters. *Biochemical Journal*. 330(1):397–403.
- ²³ Bunt JC, Salbe AD, Harper IT, Hanson RL, Tataranni PA (2003) Weight, adiposity, and physical activity as determinants of an insulin sensitivity index in pima Indian children. *Diabetes Care*. Sep;26(9):2524-30.
- ²⁴ Kai K, Morimoto I, Morita E, Okada Y, et al. (2000) Environmental stress modifies glycemic control and diabetes onset in type 2 diabetes prone Otsuka Long Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Physiol Behav*. Feb;68(4):445-52.
- ²⁵ Holmes BF, Kurth-Kraczek EJ, Winder WW. (1999) Chronic activation of 5'-AMP-activated protein kinase increases GLUT-4, hexokinase, and glycogen in muscle. *J Appl Physiol*. Nov;87(5):1990-5.
- ²⁶ Ojuka EO, Nolte LA, Holloszy JO. (2000) Increased expression of GLUT-4 and hexokinase in rat epitrochlearis muscles exposed to AICAR in vitro. *J Appl Physiol*. Mar;88(3):1072-5.
- ²⁷ Kim WH, Lee JW, Suh YH, Lee HJ et al. (2007) AICAR potentiates ROS production induced by chronic high glucose: roles of AMPK in pancreatic beta-cell apoptosis. *Cell Signal*. Apr;19(4):791-805.
- ²⁸ Farfari S, Schulz V, Corkey B, Prentki M (2000) Glucose-regulated anaplerosis and cataplerosis in pancreatic beta-cells: possible implication of a pyruvate/citrate shuttle in insulin secretion. *Diabetes*. May;49(5):718-26.
- ²⁹ Velazquez-Arellano A, **Ortega-Cuellar D**, Hernandez-Mendoza A, Moreno-Arriola E. (2001). A heuristic model for paradoxical effects of biotin starvation on carbon metabolism genes in the presence of abundant glucose. *Mol Genet Metab*. Jan;102(1):69-7
- ³⁰ K. Dakshinamurti, V.V. Modi, S.P. Mistry (1968), **Some aspects of carbohydrates metabolism in biotin-deficient rats** *Proc Soc Exp Biol Med*, 127 pp. 396–40

³¹ A.D. Deodhar, S.P. Mistry (1969) **Gluconeogenesis in biotin deficiency: In vivo synthesis of pyruvate holocarboxylase in biotin deficient rat liver** Biochemical and Biophysical Research Communications, Volume 34, Issue 6, 31 March , Pages 755–759

³² Patel MS, Mistry SP. Effect of biotin deficiency on food intake and body and organ weights of male albino rats. (1968) Growth. Sep;32(3):175-87.

³³ Dakshinamurti, K, Cheah-Tan C..(1968) Liver glucokinase of the biotin deficient rat. Canad. J.Biochem. 46: 75

³⁴ Dakshinamurti, K, L. Tarrago-Litvak, H.c. Hong. (1970) Biotin and glucose metabolism. Canad. J. Biochem. 48: 493

³⁵ Mock DM, Henrich CL, Carnell N, Mock NI (2002) Indicators of marginal biotin deficiency and repletion in humans: validation of 3-hydroxyisovaleric acid excretion and a leucine challenge. Am J Clin Nutr. Nov;76(5):1061-8.