

Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos

## BIOLOGÍA MOLECULAR Y NUTRICIÓN

*Ada de las Cagigas Reig,<sup>1</sup> Raúl Ferreira Capote<sup>2</sup> y Miguel Ángel Tam Hurtado<sup>3</sup>*

### RESUMEN

La nutrición ha definido muchos de los constituyentes necesarios para una dieta adecuada en términos de macronutrientes y micronutrientes, no obstante, las necesidades nutricionales están influenciadas por las características individuales -bioquímicas y en fin de cuentas, genéticas- y hasta por factores ambientales o sociales, por lo que estas recomendaciones nutricionales generales no se ajustan estrictamente a las necesidades particulares de un individuo. Uno de los retos de la Nutrición Moderna es la necesidad de comprender las bases de esta diferenciación en cuanto a requerimientos nutricionales individuales y coyunturales, con vistas a establecer regímenes nutricionales individuales y específicos en situaciones comprometidas. Esto no será posible si la Nutrición no suma como objeto de estudio a su ya comprendida interacción con el estado endocrino de un individuo, la evaluación de las características genéticas de cada individuo o grupo poblacional. Con la contribución de la Biología Molecular se abren nuevas perspectivas de investigación en el campo de la Nutrición. El conocimiento de la interacción entre los nutrientes y la expresión de genes particulares, permitirá profundizar en el efecto de los nutrientes en la expresión génica de enzimas, receptores, transportadores y hormonas.

*DeCS:* BIOLOGIA MOLECULAR/métodos; NECESIDADES NUTRICIONALES; PROYECTOS DE INVESTIGACION.

La Biología Molecular es una disciplina con personalidad propia, sus conceptos y tecnologías han contribuido notablemente al desarrollo de todas las restantes ramas de la biología moderna. Sin embargo, la Nutrición ha sido algo lenta en la incorporación de las posibilidades que brinda la Biología Molecular, esto puede en parte explicarse por el grado de fragmentación o especialización que presenta la nutrición en

dependencia del objeto de estudio -el ser humano, los animales de interés comercial, los animales de laboratorio- y del enfoque con que se abordan los estudios -a nivel de Salud Pública, Nutrición comunitaria, Fisiología, Bioquímica.

La pasada década ha sido testigo de la gran interacción que se está estableciendo entre ambas disciplinas y de la comprensión alcanzada sobre la importancia de los

<sup>1</sup> Licenciada en Bioquímica. Diplomada en Nutrición. Investigadora Agregada. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos.

<sup>2</sup> Licenciado en Bioquímica. Especialista en Laboratorio. Hospital Clínicoquirúrgico "Hermandades Amiejeiras".

<sup>3</sup> Licenciado en Bioquímica. Adiestrado. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos.

nutrientes no solo en el crecimiento, desarrollo y mantenimiento de los tejidos, sino también en nuevas dimensiones como son su relación con la expresión génica, efectividad de la respuesta inmune, la prevención del daño celular y su interacción con enfermedades crónicas e infecciosas.<sup>1,2</sup>

Reflejo de esta nueva interacción entre estas disciplinas es que en 1997 los investigadores que participaron en el premio internacional Danone para la Nutrición, otorgado por el Instituto Danone de Francia, postularon a los estudios genéticos dentro de las 3 áreas más importantes en las que se debe enfocar la prioridad de la investigación sobre nutrición en el siglo xx.

Son muchos los campos de interacción entre Nutrición y Biología Molecular, pero en la actualidad la comunidad científica internacional centra sus esfuerzos en los siguientes, señalados sin tener en cuenta su nivel de prioridad o de desarrollo alcanzado:

La evaluación de la relación entre nutrientes y expresión génica. La identificación de nuevos genes -y sus productos proteicos- de importancia en el contexto nutricional, por ejemplo, la reciente identificación del CART (del inglés cocaine and amphetamine regulated transcript), neuropéptido involucrado en el control central de la ingesta de alimentos.<sup>3,4</sup> La caracterización de mutaciones genéticas que provocan alteraciones nutricionales como la mutación en el gen *ob* de ratones *ob/ob* la cual involucra a la leptina, proteína que puede tener una función importante en la regulación del balance energético.<sup>5-7</sup> El desarrollo de animales transgénicos que pueden presentar genes de otras especies o ver modificada la expresión de alguno de sus genes propios mediante la supresión de la misma (animales Knockout) o provocando en él una mutación que altera la cantidad o la estructura del producto proteico codificado.<sup>8-10</sup> También la evaluación de la interacción de las características genéticas con los requerimientos nutricionales ha co-

menzado a ser objeto de investigación, y se están realizando estudios sobre las variantes génicas que influyen en las necesidades nutricionales de los individuos y los factores genéticos de predisposición a enfermedades multifactoriales con componente nutricional.<sup>11-13</sup>

En cuanto a la evaluación de la relación entre nutrientes y expresión génica, se ha demostrado que tanto los macronutrientes -carbohidratos, ácidos grasos, proteínas y/o aminoácidos- como micronutrientes -metales y vitaminas- participan coordinadamente con factores endocrinos en la regulación de la expresión génica en respuesta a cambios nutricionales.<sup>14</sup>

La interrelación entre nutrición y expresión génica se expresa en 2 sentidos: la influencia que los nutrientes ejercen sobre la expresión génica y la síntesis de proteínas, y la influencia de la expresión génica sobre los requerimientos nutricionales.

Pueden resumirse en 3 los aspectos fundamentales que deben ser abordados para comprender esta interacción:

- Cuáles genes son regulados por factores nutricionales.
- Cómo la dieta y los nutrientes en particular ejercen la regulación de la expresión de estos genes.
- Cómo está involucrada la expresión de los genes en el metabolismo y el aprovechamiento de los nutrientes.

La expresión génica es un proceso muy complejo mediante el cual se logra la síntesis de una cadena polipeptídica a partir de la información hereditaria contenida en el gen correspondiente, lo que constituye el llamado dogma central de la genética -perfeccionado en las últimas décadas con los conocimientos aportados por la Biología Molecular. La información genética en el ADN es transcrita a una molécula de ARNm (transcripto primario), la cual es procesada para dar una molécula de ARN

maduro. Este ARNm es transportado desde el núcleo hasta el citoplasma donde es traducido para la síntesis de una proteína. Potencialmente la expresión de un gen puede ser regulada en cualquiera de las etapas que transcurren desde su transcripción hasta la síntesis de la proteína activa, este estricto

y variado sistema de control está influenciado por el estado nutricional del individuo (fig. 1).

La síntesis de la molécula de ARN (transcripción) está bajo el control de secuencias promotoras situadas en las regiones adyacentes del gen. Estas secuencias

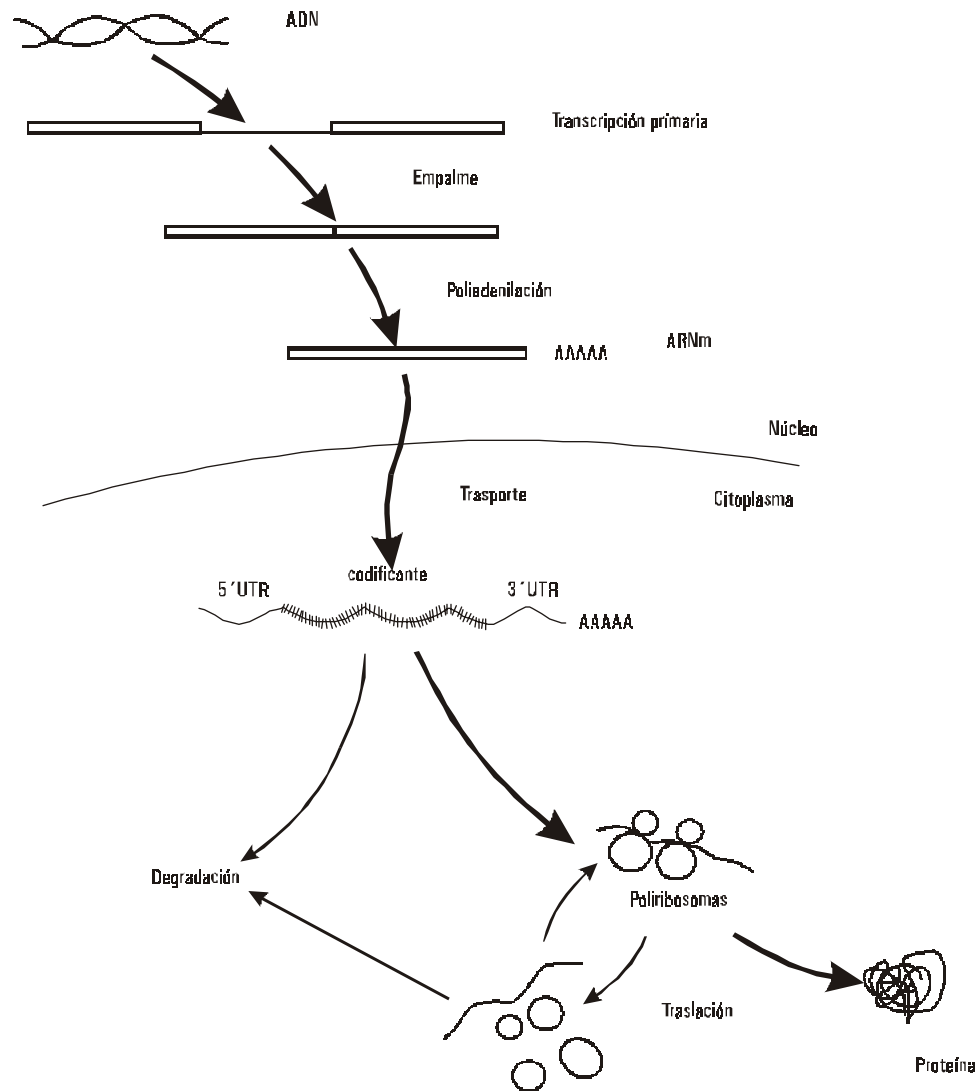


FIG. 1. Control de la expresión génica.

son como “llaves” que definen en qué momento se realiza la transcripción y su nivel de intensidad, y están controladas por diferentes factores proteicos y no proteicos.

La influencia de distintos nutrientes sobre este control transcripcional de diferentes genes ha sido ampliamente analizada. En este caso la evaluación se realiza en función de la afectación cuantitativa que sufre la síntesis de ARN mensajero (ARNm).

El análisis del ARNm se ha visto ampliamente extendido a partir del surgimiento de la metodología de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en la década de los 80, la cual es actualmente una de las principales herramientas de la Biología y la Genética Molecular.<sup>15</sup> Se realiza mediante la metodología conocida como RT-PCR, la cual conjuga la técnica de PCR y la reacción catalizada por la enzima transcriptasa inversa (RT), una polimerasa capaz de sintetizar una cadena de ADN a partir de una molécula de ARN molde (transcripción inversa). Posteriormente se amplifica mediante PCR este ADN sintetizado por la RT, así la cantidad del producto amplificado obtenido es directamente proporcional a la cantidad de moléculas del ARNm presente inicialmente en el material de partida, por lo que la intensidad del fragmento amplificado observado en una electroforesis es un indicador aproximado de los niveles de síntesis de dicho ARNm.<sup>16</sup>

Los factores nutricionales afectan el metabolismo de las citoquinas tanto en su síntesis como en su liberación, pero además inciden directa o indirectamente en la acción de las citoquinas sobre tejidos diana y pueden influir en la respuesta resultante de estos tejidos.<sup>17</sup> Por tales razones se postula que la manipulación dietética para el control de la síntesis y actividad de las citoquinas puede facilitar, incrementar o suprimir eventos, en dependencia del cuadro clínico de que se trate.

En un estudio realizado en ratas sometidas a una dieta deficiente en cinc se observó un incremento de la expresión génica

de la interleuquina-1 $\beta$  con respecto al grupo control.<sup>18</sup>

Otros estudios han demostrado que los niveles de ARNm para la producción de interferón gamma, interleuquina-2 y el receptor de la interleuquina-2 disminuyen en animales sometidos a dietas deficientes en proteínas,<sup>19</sup> al igual que el ARNm para la producción de la albúmina.<sup>20</sup> La vitamina A ejerce una regulación positiva en la expresión génica de la proteína de enlace al retinol.<sup>21,22</sup>

Sin embargo, el nivel de síntesis de una proteína no está siempre definida por el nivel de síntesis de su correspondiente ARNm, pues las etapas posteriores a la transcripción están sujetas también, como ya dijimos, a sistemas de control -que integran el llamado control postranscripcional- que pueden modificar la eficiencia de la síntesis proteica. Detección de alteraciones en la síntesis del ARNm en función de parámetros nutricionales permite predecir afectaciones en los niveles de producción de una proteína, pero la no detección de alteraciones a este nivel transcripcional no permiten asegurar la independencia de la síntesis proteica con respecto al factor nutricional evaluado, pues este puede ejercer su influencia en el control postranscripcional.

En resumen, los pasos críticos del control postranscripcional a que está sometida la expresión génica a través del ARN son el empalme, la poliadenilación, la transportación hacia el citoplasma -en función de la estabilidad que presente el ARNm-, su localización subcelular y finalmente la traducción en la secuencia polipeptídica.

Hoy día se acepta internacionalmente la función de los nutrientes en el control postranscripcional y existen muchos ejemplos de esta interacción, aunque no siempre se ha podido definir si los factores regulatorios son los nutrientes en sí, sus metabolitos o cambios hormonales producidos en respuesta a cambios dietéticos.<sup>23</sup>

Un ejemplo clásico y bien definido de esta interacción es el papel como elemento

regulatorio del hierro en el control postranscripcional de la expresión del receptor de la transferrina y de la ferritina, en ambos casos ejercido a través de elementos regulatorios situados en las regiones no traducidas (UTR) de los respectivos ARNm.

En ausencia de hierro, las proteínas represoras (denominadas IRP, del inglés iron regulatory proteins) se unen a las secuencias IRE (iron responsive elements) y protegen al ARNm de la degradación por la ribonucleasa, permitiendo así la síntesis del receptor de la transferrina. En presencia de hierro, las IRP se separan de los IRE provocando la desestabilización del ARNm, lo que conduce a una reducción de la síntesis de esta proteína y por tanto, de la entrada de hierro a la célula.<sup>24,25</sup> En este caso tenemos un mecanismo de control postranscripcional a partir de la regulación de la estabilidad del ARNm (fig. 2).

La ferritina es necesaria para el almacenamiento y destoxificación del hierro, y su síntesis está también sometida a un mecanismo de control postranscripcional regulado por el hierro que, al igual que en el caso del receptor de la transferrina, se realiza a partir de los elementos IRE e IRP.<sup>24</sup> En este caso, el ARNm contiene solamente una secuencia IRE, la cual está situada en su región 5'UTR y ejerce su función regulatoria a nivel de la traducción del ARNm. Cuando los niveles intracelulares de hierro son bajos, los IRP se unen al IRE e inhiben la traducción. En presencia de hierro se rompe esta unión IRE/IRP y se facilita la síntesis de ferritina para permitir el almacenamiento de este.

El hecho de que la síntesis de ambas proteínas (receptor de la transferrina y la ferritina) esté sometida a un mismo mecanismo de regulación a través de los elementos IRE e IRP, permite la regulación coordinada de ambas en base a la concentración de hierro.

Los elementos regulatorios del hierro han sido identificados en otros ARN como el de la aconitasa mitocondrial, lo que sugiere que el hierro puede regular la expresión de varios genes a través de los mecanismos postranscripcionales.<sup>24</sup>

Esto demuestra cómo a través del control postranscripcional puede ejercerse la regulación coordinada de diferentes proteínas relacionadas en respuesta a cambios en la concentración intracelular de un nutriente.<sup>26</sup>

Los aminoácidos también ejercen un importante control sobre la expresión de algunos genes como los de la asparagina sintetasa, produciendo un incremento de la proporción de transcripción y de la estabilidad del RNA mensajero.<sup>27</sup>

Otras 2 enzimas, la dihidrofolato reductasa y la timidilato sintasa, son capaces de regular la traslación por su unión a una parte del ARNm que incluye al codon AUG.<sup>28</sup>

Las metalotioneínas son proteínas que existen en varias isoformas, se unen al cinc, cobre y cadmio y garantizan el transporte de estos metales, el mantenimiento de la homeostasis de estos en la célula y su posible función antioxidante en la protección de daño al ADN;<sup>29</sup> después de la administración del metal se produce un incremento de la transcripción que a su vez evidencia un control en la síntesis de las metalotioneínas ya que no se aprecia este incremento en la cantidad de ARNm.<sup>30</sup>

En fin, la Biología Molecular permite el análisis de la influencia de factores nutricionales sobre la expresión génica en todas sus etapas, ya sea a nivel de la transcripción como en los procesos postranscripcionales. Las futuras investigaciones serán enfocadas a la influencia de la variación individual en esos mecanismos regulatorios sobre los requerimientos nutricionales.

Concentración de hierro

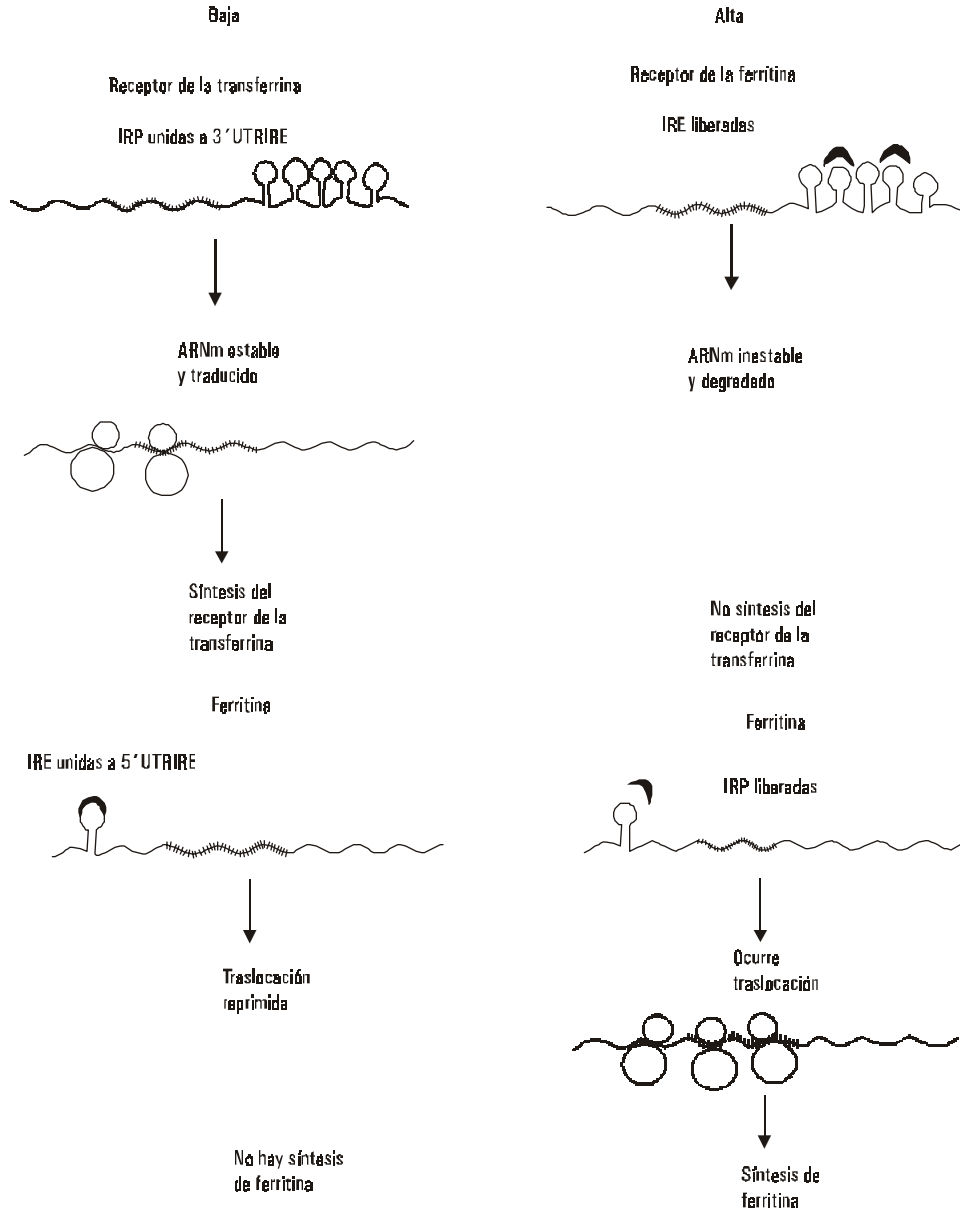


FIG. 2. Regulación del receptor de la transferrina y la ferritina por la concentración de hierro.

## SUMMARY

Nutrition has defined many of the necessary constituents for an adequate diet in terms of macronutrients and micronutrients; however, the nutritional needs are influenced by the individual biochemical and genetic characteristics, and even by environmental and social factors, so these general nutritional recommendations do not adjust strictly to the particular needs of an individual. One of the challenges of Modern Nutrition is the need to understand the basis of this differentiation as regards the individual and occasional nutritional requirements in order to establish individual and specific nutritional regimes in compromising situations. This will not be possible if Nutrition does not add the evaluation of the genetic characteristics of every individual or population group as an object of study to its already understood interaction with the endocrine state of an individual. New perspectives of research are open in the field of Nutrition with the contribution of Molecular Biology. The knowledge of the interaction between the nutrients and the expression of the particular genes will allow to go deep into the effect of the nutrients on the genetic expression of enzymes, receptors, transporters and hormones.

*Subject headings:* MOLECULAR BIOLOGY/methods; NUTRITIONAL REQUIREMENTS; RESEARCH DESIGN.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bowers DF, Allred JF. Advances in molecular biology: implications for the future of clinical nutrition practice. *J Am Diet Assoc* 1998;95:53-9.
2. Trayhurn P. Molecular biology and nutrition: The quest for integration. *Br J Nutr* 1998;80:305-6.
3. Thim L, Kristensen P, Nielsen PF, Wulff BS, Clausen JT. Tissue-specific processing of cocaine and amphetamine-regulated transcript peptides in the rat. *Proc Nat Acad Sci USA* 1999;96(6):2722-7.
4. Kaira SP. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev* 1999;20(1):68-100.
5. Trayhurn P, Hoggard N, Mercer JG, Rayner DV. Leptin: fundamental aspects. *Int Obes Relat Metab Disord* 1999;23(Supl 1):22-8.
6. Friedman M. Leptin, leptin receptors and the control body weight. *Nutr Rev* 1996;56(2Pt2):38-46.
7. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in human. *Nature* 1997;387L1):26.
8. Knapp JR, Kopchick JJ. The use of transgenic mice in nutrition research. *J Nutr* 1994;124:461-3.
9. Charron MJ, Katz EB. Metabolic and therapeutic lessons from genetic manipulation of GLUT 4. *Mol Cell Biochem* 1998;182(1-2):143-52.
10. Hollopeter G, Erickson JC, Palmiter RD. Role of neuropeptide Y in diet, chemical and genetic induced obesity of mice. *Int Obs Relat Metab Disord* 1998;22(6):506-12.
11. Li N, Sood GK, Seetharam S, Seetharam B. Polymorphism of human transcobalamin II. Substitution of proline and/or glutamine residues by arginine. *Biochem Biophys Acta* 1994;1219:512-20.
12. Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV. Prediction of bone density by vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994;367:1284-7.
13. Freaque HC. Uncoupling proteins: beyond brown adipose tissue. *Nutr Rev* 1998;56(6):185-9.
14. Clarke SD, Abraham S. Gene expression: nutrients control of pre and post-transcriptional events. *FASEB* 1992;6:3146-52.
15. Saiki RK, Gelfand DH. Introducing Ampli Taq DNA polymerase. *Amplifications* 1989;1:4-6.
16. Foley KP, Leonard MW, Engel JD. Quantitation of RNA using the polymerase chain reaction. *Trends Genet* 1993;9:380-5.
17. Grimble RF. Interaction between nutrients, proinflammatory cytokines and inflammation. *ClinSci* 1996;91:121-30.
18. Nobili F, Francesco V, Figus E, Mengheri E. Treatment of rats with dexamethasone or thyroxine reverses zinc deficiency-induced intestinal damage. *J Nutr* 1997;127:1807-13.
19. Mengheri E, Nobili F, Crocchioni G, Lewis JA. Protein starvation impairs the ability of activated lymphocytes to produce interferon-gamma. *J Interferon Res* 1992;12(1):17-21.
20. Perozzi G, Mengheri E, Faraonio R, Gaetani S. Expression of liver-specific genes coding for plasma proteins in protein deficiency. *FEBS Lett* 1989;257(2):215-8.

21. Kato S, Takeyama K, Kojima R, Yoshizawa Y, Furusho T, Mano H, et al. Gene expression of cellular retinol-binding protein I (CRBP I) is affected by dietary proteins in the rat liver. *J Nutr Sci Vitaminol* 1993;39(6):545-54.
22. Perozzi G, Mengherl E, Colantuoni V, Gaetani S. Vitamin A intake and in vivo expression of genes involved in retinol transport. *Eur J Biochem* 1991;196(1):211-7.
23. Hesketh JE, Vasconcelos MH, Bermano G. Regulatory signals in messenger RNA: determinants of nutrient-gene interaction and metabolic compartmentation *Br Nutr* 1998;80:307-21.
24. Madani N, Linder MC. Differential effects of iron inflammation on ferritin synthesis of free and membrane-bound polyribosomes in rat liver. *Arch Biochem Biophys* 1992;299:206-13.
25. Thell EC. Iron regulatory elements (IREs): a family of mRNA-coding sequences. *Biochem J* 1994;304:1-11.
26. Klausner RD, Rouault TA, Harford JB. Regulating the fate of mRNA: the control of cellular iron metabolism. *Cell* 1993;72:19-28.
27. Jousse C, Bruhat A, Fafournoux P. Amino acid regulation of gene expression. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1999;2(4):297-301.
28. Chu E, Voeller D, Koeller DM, Drake JC, Takimoto CH, Maley GF, et al. Identification of an RNA binding site for human thymidylate synthase. *Proc Nat Acad Sci USA* 1993;90:517-21.
29. Bremner I, Baattie JH. Metallothioneins and the trace minerals. *Rev Nutr* 1990;10:630-83.
30. Vasconcelos MH, Tam SC, Beattie JH, Hesketh JE. Evidences of differences in post-transcriptional regulation of rats metallothioneins isoforms. *Biochem J* 1996;315:665-71.

Recibido: 19 de octubre del 2001. Aprobado: 29 de noviembre del 2001.

Lic. *Ada de las Cagigas Reig*. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Infanta No. 1158, municipio Centro Habana, Ciudad de La Habana, Cuba.