

Modificaciones del metabolismo del RNA muscular en ratas sometidas a una dieta hiperproteica*

E. Muñoz-Martínez**, M. T. Unzaga, P. Varela, A. Marcos,
J. L. Rey de Viñas y G. Varela

Departamento de Fisiología Animal
Facultad de Farmacia
Universidad Complutense
28040 Madrid

(Recibido el 2 de enero de 1986)

E. MUÑOZ-MARTINEZ, M. T. UNZAGA, P. VARELA, A. MARCOS, J. L. REY DE VIÑAS, and G. VARELA. *Changes in Muscle RNA Metabolism of Rats Submitted to a High Protein Diet*. Rev. esp. Fisiol., 43 (1), 57-62, 1987.

The effect of a high protein diet (20% casein + D,L-methionine) administered to adult Wistar rats on some aspects of muscle RNA metabolism has been studied. Body weight increased in spite of lower intake. However, gastrocnemius muscle remained unmodified, although protein content increased. Total RNA decreased in the whole muscle although RNA/DNA ratio did not change. Protein synthesis capacity diminished 81% relative to controls in spite the fact that an excessive amount of available amino acids exists. RNA loss might depend on a high catabolism, since acid RNase activity increased over control values. Therefore, it may be concluded that a high protein diet leads to a lower protein synthesis capacity through an elevated RNA breakdown.

Key words: High protein diet, RNA, Muscle.

La contribución muscular al flujo de síntesis proteica corporal total es de gran importancia, ya que este órgano representa el mayor almacén de proteínas fijas corporales (29) y su rendimiento de fijación proteica es de los más elevados. Así, en el adulto normal la velocidad de síntesis proteica muscular representa casi el

50% de la total corporal (24), siendo en la rata de menor proporción (16).

Este potencial de síntesis proteica está determinado según ARNAL *et al.* (2) por la tasa total de DNA, mientras que la capacidad de síntesis es función de la cantidad de RNA. De ahí que su eficacia pueda ser precisada con la ayuda de la cantidad de proteínas sintetizadas por unidad de RNA.

Por otra parte, la velocidad de síntesis proteica se modifica por el estado nutri-

* Trabajo subvencionado por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica.

** A quien debe dirigirse la correspondencia.

tivo, el cual puede regular la masa proteica muscular. Así, la carencia proteica (19) y energética (1) de la dieta en la rata y los períodos cortos de ayuno en el hombre (24), hacen caer la velocidad de síntesis proteica muscular sin aumentar la de su degradación.

Esta respuesta se acompaña en casos de malnutrición proteica de una disminución en la cantidad total de RNA y de DNA muscular (19).

Sin embargo, los efectos del aumento de la tasa proteica dietaria son menos conocidos. A este respecto, MILLWARD *et al.* (17, 18) observan que el incremento del 30% al 60% de proteína ingerida, provoca una disminución en la actividad del RNA muscular, así como de la razón RNA/proteína.

Paralelamente aparecen mecanismos muy sensibles capaces de proteger a los tejidos del impacto de una ingesta excesiva de aminoácidos, entre los que destacan el incremento de la degradación y de la formación de urea (9, 10).

La provisión de aminoácidos para este proceso puede afectar, a su vez, a las tasas relativas de la síntesis y del catabolismo proteico del músculo, lo que puede cambiar esencialmente su metabolismo.

Basados en estas consideraciones y a fin de conocer mejor los procesos adaptativos del músculo ante un aumento en la disponibilidad de aminoácidos, se estudia la influencia que el incremento de un 100% en la proteína dietaria puede ejercer sobre el metabolismo del RNA muscular.

Material y Métodos

Diseño experimental. — Se utilizan 20 ratas Wistar de unos 160 g, repartidas en dos grupos: 1) Control, alimentadas con una dieta al 10% de proteína (caseína + D,L-metionina) (22), y 2) Hiperproteico, que recibe una dieta al 20% de proteína (27).

Tras un período de adaptación de una

semana, el experimento se prolonga durante 21 días, durante los cuales los animales son instalados en células individuales de metabolismo, ubicadas en una habitación termorregulada a 23°C e iluminada de 08 a 20 horas. El alimento y el agua son suministrados *ad libitum* y se controla diariamente la ingesta y el peso.

Al final del experimento los animales son pesados y sacrificados en grupos de 10. Se utiliza el músculo gastrocnemio como material biológico.

Veinte muestras correspondientes a ambos grupos experimentales se homogeneizan en un homogenizador ultraturax con solución tampón (ClNa 0,1 M y CO₃HNa 0,05 M), pH 7,4, en una proporción del 20% (P/V). Posteriormente, se centrifuga a 550 × g durante 10 min a 0-4°C. Para los análisis de proteína soluble y actividad ribonucleasa (RNasa) ácida, se utilizan alícuotas de los sobrenadantes.

Otras veinte muestras se emplean para la determinación del RNA, que se lleva a cabo previa extracción con ácido tricloroacético.

Ensayos analíticos. — La actividad de RNasa ácida se determina por el método de KALNITSKY *et al.* (12) y se expresa por mg de proteína, por órgano total, por RNA y por célula (RNA/DNA). Las proteínas se determinan por el método de LOWRY *et al.* (14). La cuantificación del RNA se realiza mediante la técnica de SCHMIDT y THANNHAUSER (25) con modificación de MUNRO y FLECK (21). Los valores se expresan por órgano y por célula (RNA/DNA). La capacidad de síntesis proteica se evalúa por la razón RNA/proteína (19).

Los resultados se expresan como valores medios ± SEM. Las diferencias obtenidas comparando los datos del grupo hiperproteico frente al control se determinan mediante el test de la *t* de Student (26). La posibilidad menor de 0,05 se considera significativa.

Resultados y Discusión

El incremento de la tasa proteica en la dieta conduce a un aumento en el peso corporal final de un 9,4% en relación al control (tabla I), que se produce diariamente a lo largo del experimento (incremento peso rata/día). Este resultado es señalado también por GIOVANETTI y STOTHERS (6), en ratas sometidas a tres niveles de proteína en la dieta (5, 10 y 20%).

Sin embargo, la cantidad de alimento ingerido, expresado tanto por día (g/rata/día) como por 100 g de rata, disminuye respecto al control. Según LEUNG y MUNK (13), esta reducción es un mecanismo protector frente al exceso de proteína y parece depender de la existencia de un factor que impide a la rata incrementar su ingesta (15).

El peso del músculo gastrocnemio no se modifica, lo que conduce a la disminución en un 25% del índice miosomático (razón peso muscular/peso corporal) en relación a controles.

Esta discrepancia entre el peso total y

Tabla I. *Influencia de la dieta hiperproteica sobre la ingesta, peso corporal y muscular e índice miosomático en ratas.*

Parámetro	Control	Hiperproteico
Ingesta (g.s.s./rata/día)	13,89±0,33	12,53±0,56*
Ingesta (g.s.s./100 g rata)	7,75±0,60	6,61±0,30**
Peso corporal inicial (g)	162,15±4,78	164,10±1,73
Peso corporal final (g)	196,18±4,76	214,66±3,16**
Incremento peso rata/día (g)	1,80±0,36	2,75±0,34**
Peso músculo (g)	1,51±0,13	1,24±0,03
Índice miosomático × 1.000	7,70±0,08	5,78±0,19***

* P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001 en comparación con el grupo control.

Tabla II. *Influencia de la dieta hiperproteica sobre el metabolismo del RNA en músculo gastrocnemio de rata.*

Parámetro	Control	Hiperproteico
Proteína soluble (mg / órgano)	56,67 ±4,69	109,57±9,81***
Proteína soluble mg/g órgano	37,65 ±1,67	91,27±8,06***
RNA/órgano (mg)	22,88 ±1,18	8,57±0,23***
RNA/g órgano (mg)	15,15 ±0,83	6,91±0,39***
RNA/DNA	13,70 ±0,74	14,28±0,82
RNA/proteína	0,37 ±0,008	0,07±0,006***
RNasa U.I/ órgano	0,06 ±0,003	1,62±0,15***
RNasa U.I/mg proteína	0,001±0,0006	0,01±0,001***
RNasa U.I / RNA	0,002±0,0001	0,18±0,01***
RNasa U.I / DNA	0,03 ±0,002	2,70±0,16***

* P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; P ≤ 0,001 en comparación con el grupo control.

el muscular, parece señalar que el exceso ponderal puede ser consecuencia de un mayor depósito de grasa en los adipocitos. A este respecto, también DONALD *et al.* (5) encuentran una tendencia a la obesidad en ratas adultas sometidas a dietas altas en proteína (25%) en las que el depósito de grasa llega a representar un 24% del peso corporal.

El incremento en la proteína soluble muscular, tanto por órgano como por gramo, puede relacionarse con un posible acúmulo de proteína (tabla II). ODDOYE y MARGEN (23) señalan, en clínica humana, la aparición de un depósito corporal persistente de nitrógeno después de una ingesta muy alta en proteína. Además, dada la invariabilidad del peso muscular, el contenido en agua u otros sustratos celulares puede disminuir, a fin de

acomodar el incremento en la retención nitrogenada (28).

El metabolismo del RNA se modifica por la dieta hiperproteica, ya que este ácido nucleico disminuye, tanto por órgano (63%) como por gramo (54%), en relación al control, aun cuando la razón RNA/DNA no se altera. Estos resultados sugieren que el aumento en la disponibilidad de los aminoácidos dietarios, al disminuir la cantidad de ribosomas del músculo, podría afectar la formación de proteínas (8). En efecto, la capacidad de síntesis proteica (RNA/proteína) disminuye un 81% en el músculo de los animales que ingieren un 20% de proteína dietaria, en relación al control.

En este sentido, GLICK *et al.* (7) indican que también la sobrealimentación conduce a una disminución tanto de la velocidad fraccional de la síntesis proteica muscular, como de la razón RNA/proteína, la cual descendiende un 21% en relación al valor basal.

De ello se deduce que el incremento en la ingestión de proteína, determina efectos más drásticos que la sobrealimentación sobre la capacidad de síntesis proteica muscular, lo que parece confirmar la existencia de mecanismos protectores de adaptación (20).

También JEFFERSON *et al.* (11) en músculo perfundido, señalan que la síntesis proteica disminuye al aumentar la concentración de aminoácidos esenciales en el medio. Además, DICKERSON y MC ANULTY (4) en animales malnutridos y realimentados encuentran tasas bajas de síntesis proteica en músculo gastrocnemio.

Por otra parte, la pérdida de la tasa de RNA parece depender de una mayor degradación de este ácido nucleico. Así, tanto la actividad específica del enzima RNasa ácida, como su tasa por órgano, por RNA y por célula, se elevan muy significativamente respecto al control. Este enzima parece jugar un importante papel en el mecanismo de adaptación a la

dieta alta en proteína, lo que contribuiría a la remodelación de la masa muscular, a través del aumento en el catabolismo del RNA. También BROWN y MILLWARD (3) señalan que el aumento en la ingesta proteica, en casos de estrés por frío, conduce a la pérdida de la masa muscular, explicando este resultado por el aumento originado en la degradación de la proteína muscular, mediante la liberación del enzima catepsina D.

Por consiguiente, la elevación de la tasa proteica en la dieta origina una menor capacidad de síntesis proteica muscular a través de modificaciones en el metabolismo del RNA, lo que conduce a la adaptación del músculo a la nueva situación dietaria.

Resumen

Se estudia el efecto de una dieta moderadamente hiperproteica (20% caseína + D,L-metionina) e isocalórica con la control (10% caseína + D,L-metionina) sobre algunos aspectos del metabolismo del RNA muscular en ratas adultas. El peso corporal se incrementa a pesar de la menor ingesta. Sin embargo, el peso del músculo gastrocnemio no se modifica, aunque su contenido proteico aumenta. La tasa de RNA total disminuye, aun cuando no se modifica la razón RNA/DNA. La capacidad de síntesis proteica por su parte presenta un descenso del 81% en relación al control, a pesar de la mayor cantidad de aminoácidos disponibles. La pérdida de RNA parece depender del incremento en su catabolismo, ya que la actividad específica del enzima RNasa ácida se incrementa muy significativamente. Se puede concluir que la elevación de la proteína en la dieta, conduce a una disminución en la capacidad de síntesis proteica muscular, a través de una mayor degradación del RNA.

Palabras clave: Dieta hiperproteica, RNA, Músculo.

Bibliografía

1. Arnal, M., Fauconneau, G. y Pech, R.: *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.*, 12, 91-108, 1972.
2. Arnal, M., Obled, Ch. y Attaix, D.: En «IV

- Symp. Int. Metabolisme et Nutrition Azotes» (Prion, R., Arnal, M. y Bonin, P., eds.) INRA. II (Les colloques de l'INRA, n.º 16). Paris, 1983, pp. 117-136.
3. Brown, J. C. y Millward, D. J.: *Biochem. Biophys. Acta*, 757, 182-190, 1975.
 4. Dickerson, J. W. T. y McAnulty, P. A.: *Br. J. Nutr.*, 3, 171-177, 1975.
 5. Donald, P., Pitts, G. C. y Pohl, S. L.: *Science*, 211, 185-186, 1981.
 6. Giovanetti, P. M. y Stothers, S. C.: *Growth*, 39, 1-16, 1975.
 7. Glick, Z., McNurcan, M. A. y Garlick, P. J.: *J. Nutr.*, 112, 391-397, 1982.
 8. Goldspink, D. F.: *J. Physiol.*, 264, 267-282, 1977.
 9. Grisolia, S., Wallace, R. y Mendelson, J.: *J. Physiol. Chem. Physics*, 7, 219-223, 1975.
 10. Harper, A. E.: En «Basic Mechanism and Clinical Implications» (Novin, D., Wirwicke, W., Bray, G. y Unger, R. H., eds.). Raven Press. Nueva York, 1976, pp. 103-113.
 11. Jefferson, L. J., Li, J. B. y Rannels, S. R.: *J. Biol. Chem.*, 252, 1476-1483, 1977.
 12. Kalnitsky, G., Hummel, J. P., Kesnick, H., Carter, J. R., Barnett, L. B. y Dierks, C.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 81, 542-566, 1959.
 13. Leung, K. y Munk, A.: *Ann. Rev. Physiol.*, 37, 245-272, 1975.
 14. Lowry, O. A., Rosebrough, N. J., Fair, A. L. y Randall, R. J.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275, 1951.
 15. Mercer, L. P., Watson, D. E., Ramlet, J. S.: *J. Nutr.*, 111, 1117-1123, 1981.
 16. Millward, D. J., Bates, P. C. y Roschack, S. R.: *Reprod. Nutr. Develop.*, 21, 265-277, 1981.
 17. Millward, D. J., Garlick, P. J., James, W. P. T., Nnanyelugo, D. O. y Ryatt, J. S.: *Nature*, (Londres), 241, 204-205, 1973.
 18. Millward, D. J., Garlick, P. J., Nnanyelugo, D. O. y Waterlow, J. C.: *Biochem. J.*, 156, 185-188, 1976.
 19. Millward, D. J., Garlick, P. J., Stewart, R. J. C., Nnanyelugo, D. O. y Waterlow, J. C.: *Biochem. J.*, 150, 235-243, 1975.
 20. Munro, H. N.: En «Nutritional Improvement of Food and Feed Proteins» (Friedman, H. D. ed.), Plenum Pres, Nueva York, Londres, 1978, pp. 119-127.
 21. Munro, H. N. y Fleck, A.: *Analyst*, 91, 78-88, 1966.
 22. Nutrition Research Council. «Nutrition Requirements of Laboratory Animals». National Academy Sciences. Washington, D. C., 1978, pp. 7-37.
 23. Oddoye, E. R., Margen, S.: *J. Nutr.*, 109, 363-377, 1979.
 24. Rennie, M. J., Edwards, R. H. T., Halliday, D., Matthews, D. E., Wolman, S. L. y Millward, D. J.: *Clin. Sci.*, 63, 519-523, 1982.
 25. Schmidt, G. y Thannhauser, S. J.: *J. Biol. Chem.*, 161, 83-89, 1945.
 26. Sokal, R. R. y Rohlf, F. J.: En «Biometría: Los Principios y la Práctica de la Estadística en la Investigación Biológica». H. Blume. Madrid. 1979, pp. 145-194.
 27. Varela, P., Muñoz-Martínez, E., Marcos, A., Unzaga, M. T. y Varela, G.: *Rev. esp. Fisiol.*, 42, 111-116, 1986.
 28. Widdowson, E. M. y Mc Cance, R. A.: En «Studies on the Nutritive Value of Bread and to the Effect of Variations in the Extractive Rate of Flour on the Growth of Undernourished Children». (Med. Res. Council. Special. Report. Series). H. M. Stationery Office, Londres, 1954, p. 287.
 29. Young, V. R.: En «Mammalian Protein Metabolism». (Munro, H. N., ed.). Academic Press, Nueva York, 1970, vol. 4. pp. 586-674.

