

# La biotina: una vitamina vieja con funciones nuevas

Asdrúbal Aguilera-Méndez <sup>1</sup>✉, Deyanira Serrato-Ochoa <sup>2</sup>, Renato Nieto-Aguilar <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, UMSNH.

<sup>2</sup> Centro Universitario de Estudios de Posgrado e Investigación. Facultad de Odontología, UMSNH

## Resumen

La biotina es cofactor de carboxilasas, las cuales son esenciales en el metabolismo y están ampliamente distribuidas en la naturaleza. En mamíferos se reportó que a concentraciones farmacológicas modifica la expresión génica y tiene efectos en diversos procesos biológicos. También existen estudios en plantas de las funciones biológicas de la biotina distintas a su papel clásico como cofactor. En esta revisión veremos los efectos biológicos de la vitamina, distintos a su función clásica como cofactor de las carboxilasas, tanto en animales como en plantas. Lo que dará un conocimiento de la posibilidad de usarla como agente terapéutico en padecimientos de importancia mundial y el uso en plantas con posibles aplicaciones biotecnológicas.

**Palabras claves:** Biotina, mamíferos, plantas

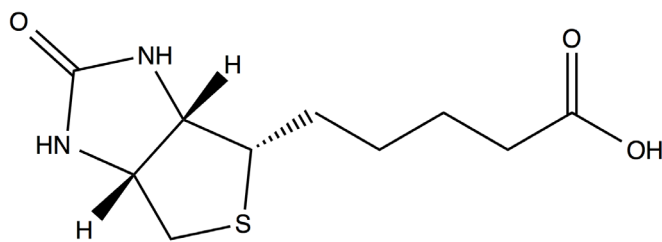
## Abstract

Biotin is cofactor of carboxylases, which are essential in metabolism and are widely distributed in nature. In mammals is reported that pharmacological concentrations modify gene expression and has effects on various biological processes. As well, recent research has found in plants that biotin intervene in processes other than the classical carboxylation reactions. We review recent findings showing the biological effects of biotin, other than its conventional function as a cofactor of carboxylase, both in animals and plants. That knowledge will present the possibility in its uses as a therapeutic agent in diseases of global importance and its use in plants with potential biotechnological applications.

**Key words:** Biotin, mammals, plants

## Introducción

La biotina (vitamina B7 o H) es una vitamina hidrosoluble esencial para la vida de todos los organismos, la pueden sintetizar las plantas, la mayoría de las bacterias y algunos hongos (Alban *et al.*, 2000). Fue descubierta por Boas (Boas, 1927) y caracterizada por Kogl y Tonnis como un factor indispensable para el crecimiento de levaduras (Kogl y Tonnis, 1932). Químicamente es un compuesto heterocíclico, con un anillo de imidazolidona enlazado a un anillo de tetrahidrotiofeno y unido con una cadena lateral de ácido valérico (Figura 1). En todos los organismos, sirve como cofactor de enzimas implicadas en la transferencia de CO<sub>2</sub> durante las reacciones de carboxilación, descarboxilación y transcarboxilación (Dakshinamurti y Chauhan, 1989; Knowles, 1989).



**Figura 1. Fórmula química de la biotina.** Es un compuesto heterocíclico, con un anillo de imidazolidona, unido a un anillo de tetrahidrotiofeno y con un ácido valérico unido lateramente

## Función clásica en animales

La función clásica de la biotina tanto en animales como en plantas, es la de participar como grupo prostético de las carboxilasas: acetil-CoA carboxilasa (ACC 1 y 2) (E.C. 6.4.1.2), piruvato carboxilasa (PC) (E.C. 6.4.1.1), propionil-CoA carboxilasa (PCC) (E.C. 6.4.1.3) y metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC) (E.C.6.4.1.4) (Figura 2). Las carboxilasas son sintetizadas como apocarboxilasas y participan en diversos procesos metabólicos como la gluconeogénesis, la lipogénesis, la oxidación lipídica y el catabolismo de aminoácidos (Sarawut y Wallace, 2003).

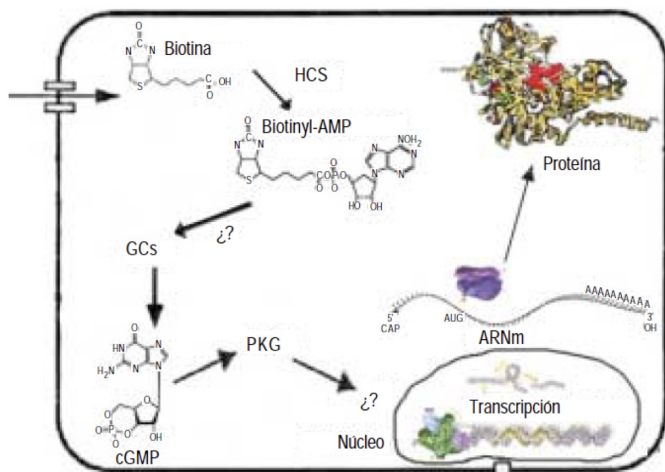
Los animales no pueden sintetizar biotina, por lo que es necesario consumirla en la dieta diaria. La biotina se encuentra en los alimentos principalmente unida al grupo ε-amino de la lisina formando el dímero biocitina, péptidos biotinilados o en forma libre (Dakshinamurti y Chauhan, 1994). También se puede obtener del aporte de las bacterias de la flora intestinal (Vilches y Fernández, 2005). La biotina que se encuentra unida a péptidos debe ser hidrolizada para su absorción, rompiendo el enlace semipeptídico por la acción de la biotinidasa pancreática (Hymes y Wolf, 1996). La biotina libre se absorbe por los enterocitos de la porción distal del duodeno y proximal del yeyuno y posteriormente pasa al torrente sanguíneo. Entra a las células mediante un transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio (SMVT) que reconoce principalmente la porción del ácido valérico de la biotina (Vilches y Fernández, 2005).

## Función a concentraciones farmacológicas

Se descubrió que además de participar en procesos metabólicos como grupo prostético de las carboxilasas, a concentraciones farmacológicas modifica funciones biológicas a través de un efecto sobre la expresión genética. Los procesos biológicos que modifica incluyen la proliferación celular, el desarrollo

✉ **Autor de correspondencia:** Dr. Asdrúbal Aguilera Méndez. Email: amendez@umich.mx; asdraguilera@yahoo.com.mx. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Edificio B-3, Ciudad Universitaria. Morelia, Michoacán, México. C.P. 58060.





**Figura 3. Mecanismo propuesto de acción de la biotina a través de la vía de la GC/GMPc/PKG.** La holocarboxilasa sintetasa (HCS) produce el intermediario biotinil-AMP, éste por un mecanismo desconocido aumenta la actividad de la guanilato ciclasa soluble (GCs). El incremento de las concentraciones de GMPc intracelular activan a la proteína cinasa G (PKG), la cual puede fosforilar diferentes proteínas que participan en la regulación de la expresión genética. (Tomada de Vilches y Fernández, 2005).

139 genes, mientras que disminuyó la de 131 en células mononucleadas de sangre periférica (Wiedmann *et al.*, 2004). Ya que se observó un incremento mayor al 40 % (positivamente) o decremento menor al 40 % (negativamente) en la señal de fluorescencia al momento de hibridar las sondas y las moléculas diana. Además, los resultados fueron confirmados en varios genes utilizando la técnica de RT-PCR en tiempo real. Esto indicó un efecto amplio en la expresión génica. Otros estudios identificaron que la biotina regula a nivel transcripcional la abundancia del ARNm de proteínas que la requieren como grupo prostético y sustrato, como la holocarboxilasa sintetasa (HSC) (Rodríguez *et al.*, 2001), las carboxilasas (PC y PCC) (Solozarno *et al.*, 2002) y el transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio (SMVT) (Pacheco *et al.*, 2004). Así como de proteínas que no la requieren como cofactor: la interleucina 2 y su receptor (Rodríguez *et al.*, 2003), los factores transcripcionales NF- $\kappa$ B (Rodríguez y Zemleni, 2003), N-myc, c-myc, N-ras, raf (Scheerger y Zemleni, 2003) y SERCA 3 (Griffin *et al.*, 2006).

A nivel traduccional se encontró que también regula a varias proteínas. En estudios de proteómica encontraron que en la línea celular HepG2, aproximadamente 40 proteínas cambiaron al menos 25% su abundancia en respuesta a la suplementación con cantidades farmacológicas de la vitamina (Rodríguez *et al.*, 2005).

### **Efecto sobre el metabolismo de carbohidratos**

En estudios clínicos se encontró que pacientes con diabetes tipo 1 tratados durante una semana con biotina y sin recibir insulina exógena, disminuyeron sus concentraciones de glucosa en ayuno (Coggeshall *et al.*, 1985). En otro estudio con pacientes diabéticos tipo 2, la administración oral de 9 mg de biotina diarios durante un mes, disminuyó las concentraciones de glucosa en ayuno (Maebashi *et al.*, 1993). El efecto hipoglucemiante de la biotina, se encuentra acorde con observaciones que indican que reduce la expresión de genes de enzimas, cuya actividad favorece la disminución de las concentraciones de glucosa

sanguíneas y reduce la expresión del ARNm de proteínas de acción hiperglucemiante.

En animales de experimentación se observó un aumento en la actividad de la glucocinasa hepática y ARN mensajero tanto *in vivo* (Dakshinamurti y Cheah-Tan, 1968), como en hepatocitos en cultivo (Spence y Koudelka, 1984). En la línea celular hepática HUH7 aumentó la traducción del receptor de insulina (De la Vega y Stockert, 2000). En contraste, dosis farmacológicas de la vitamina disminuyen la abundancia del ARNm y la actividad de la fosfoenolpiruvato carboxicinas (Dakshinamurti y Li, 1994), una enzima de acción hiperglucemiante. En ratas con diabetes inducida por estreptozotocina, se observó que a las 3 horas de la administración de biotina, se redujo la expresión de otros genes gluconeogénicos como la enzima glucosa-6-fosfatasa y el factor transcripcional HNF-4-alfa, y FoxO-1 (Sugita *et al.*, 2008). En el páncreas endocrino se reportó aumento de la actividad y la expresión de la glucocinasa pancreática (Romero *et al.*, 1999), isoenzima que en la célula  $\beta$  tiene una función sensora de glucosa y cuya actividad repercute directamente en la secreción de insulina inducida por glucosa. En estudios de Lazo de la Vega, encontraron que la administración de una dieta rica en biotina a ratones sanos, induce cambios en la expresión de genes que favorecen el funcionamiento del islote pancreático (Lazo de la Vega *et al.*, 2013). En ratones (Reddi *et al.*, 1988) y ratas que desarrollan diabetes (Zhang *et al.*, 1996), se observó una disminución de la hiperglucemia y en la curva de tolerancia a la glucosa en respuesta al tratamiento con dosis farmacológicas de la vitamina.

### **Efecto en el metabolismo de los lípidos**

Dado que la biotina interviene como cofactor de las carboxilasas ACC 1 y 2, enzimas cruciales en la síntesis y oxidación de ácidos grasos respectivamente, existe una relación directa entre ésta vitamina y el metabolismo de lípidos (Dakshinamurti y Desjardins, 1968; Suchy y Wolf, 1986).

La administración de biotina (5 mg/días) durante 4 semanas en pacientes con aterosclerosis e hipercolesterolemia, produjo un decremento en las concentraciones de colesterol total (Dokusova y Krivoruchenko, 1972). En voluntarios sanos se encontró que la administración de 0.9 mg/día de biotina produjo modificaciones en los niveles de lípidos plasmáticos, las cuales variaron dependiendo del tiempo de administración y hubo una disminución en los individuos que presentaban hiperlipemia (Marshall *et al.*, 1980). Báez y colaboradores encontraron que el tratamiento con 5 mg tres veces al día de biotina en pacientes diabéticos y no diabéticos, disminuyó las concentraciones de triglicéridos plasmáticos. La disminución fue más pronunciada en pacientes cuyas concentraciones de triglicéridos se encontraban por arriba de los límites normales sanguíneos (Baez *et al.*, 2004).

En estudios con animales de experimentación también se encontró que la biotina modifica la hiperlipemia. En ratas con predisposición a desarrollar diabetes y resistencia a insulina, el tratamiento con biotina disminuyó las concentraciones de lípidos séricos (Marshall *et al.*, 1976). En estudios de Levert y colaboradores encontraron que en la línea celular de adipocitos 3T3-L1, un análogo cloroacetilado de biotina (CABI), inhibe la actividad de ACC-1 y reduce la expresión de los factores STAT-1,

STAAT-5 y PPAR- $\alpha$ , factores transcripcionales con una función muy importante en el metabolismo de lípidos (Levert *et al.*, 2002). En ratones sanos, se encontró que una dieta suplementada con biotina durante 8 semanas, disminuyó los niveles séricos de triglicéridos. La disminución estaba asociada a una menor expresión del ARNm de enzimas y factores transcripcionales lipogénicos (Larrieta *et al.*, 2010).

Recientemente se reportó por primera vez en ratones sanos, que la biotina a concentraciones farmacológicas disminuye la síntesis de triglicéridos, modificando la fosforilación de las carboxilasas ACC 1 y 2, por medio de la activación de la cinasa AMPK (Aguilera y Fernández, 2012), la cual es clave en el control energético y está relacionada de manera importante en diabetes y cáncer (Hardie 2011; Hardie *et al.*, 2012).

Existen comercialmente medicamentos disponibles que contienen cantidades farmacológicas de biotina (2mg) en combinación con el picolinato de cromo (600  $\mu$ g), los cuales se usan en pacientes diabéticos, mejorando los niveles de glucosa y triglicéridos en suero (Albarracin *et al.* 2007, 2008).

### Función clásica en plantas

La biosíntesis de biotina fue dilucidada en bacterias y se realiza a partir del pimeloil-CoA y la alanina. Se lleva a cabo en cuatro reacciones secuenciales que resultan en la producción de: ácido 7-ceto-8-aminopelargónico (KAPA), ácido 7,8-diaminopelargónico (DAPA), detiobiotina (DTB) y en última instancia, la biotina. Su biosíntesis en plantas se realiza a través de una vía similar, pero se divide en dos compartimentos diferentes: en el citosol la producción inicial de KAPA (Pinon *et al.*, 2005) y en las mitocondrias la conversión de DTB a biotina (Arnal *et al.*, 2006). Además, en plantas las enzimas que requieren biotina como cofactor se encuentran en cuatro compartimentos distintos: los cloroplastos, mitocondrias, cuerpos proteicos y el citosol. Por lo tanto, las plantas deben poseer mecanismos de transporte intracelular para la entrega de biotina (Nikolau *et al.*, 2003).

### Función no clásica

Existen menos conocimientos del efecto de la biotina en la regulación de procesos biológicos de plantas, que sobre los existentes sobre su efecto en animales. Al igual que en mamíferos, se ha reportado recientemente que en las plantas la biotina también participa en procesos diferentes a la de su función clásica como cofactor de las carboxilasas. Se reportó que participa en la defensa, la muerte, el crecimiento y el desarrollo celular (Li *et al.*, 2012; Maruyama *et al.*, 2012).

Utilizando técnicas genéticas se encontró que en la mutante letal de *Arabidopsis* bio1-1, la cual no sintetiza biotina, la embriogénesis estaba arrestada en la etapa globular. En estos embriones mutantes no se detectó la síntesis de biotina y fueron rescatados por la adición exógena de biotina y detiobiotina (DTB) al medio de cultivo (Schneider *et al.*, 1989). Además, se observó que la mutante bio1-1 se complementa con la sobre expresión del gen BIOA de *Escherichia coli*, lo que indicó que el gen mutado codifica para una BIO-1 sintasa de ácido 7,8-diaminopelargónico (DAPA) muy conservada durante la evolución (Patton *et al.*, 1996). Estas observaciones sugieren que la biosíntesis de biotina

tiene una función vital durante el desarrollo embrionario de plantas superiores y demuestra claramente que algunos auxótrofos en las plantas son eliminados a través de letalidad embrionaria (Schneider *et al.*, 1989).

En otros estudios se ha puesto de manifiesto la importancia del lugar de síntesis de la biotina y se ha asociado a los peroxisomas, los cuales a su vez se han relacionado con la muerte celular y la producción de compuestos implicados con la defensa de las plantas (Li *et al.*, 2012). Palva y colaboradores aislaron una mutante de *Arabidopsis* (BIO-4) en el gen (*bio-4-1*), la primera enzima en la síntesis de biotina, la cual fue rescatada por adición de la vitamina de manera exógena y complementación genética. Las plantas BIO-4 mostraron acumulación masiva de peróxido de hidrógeno y expresión constitutiva de genes implicados en la defensa celular y en la señalización de especies reactivas de oxígeno. También observaron que el fenotipo de muerte celular era independiente en la señalización por ácido salicílico y jasmonato. Curiosamente, el aumento observado en la expresión de genes de defensa no fue acompañado por una mayor resistencia a patógenos bacterianos, que explicaron por un desacoplamiento en la transcripción de los genes de defensa y la acumulación de la proteína correspondiente. La caracterización de los perfiles de proteínas biotiniladas mostró una reducción sustancial, tanto de proteínas en los cloroplastos, como de un polipéptido biotinilado nuclear en la mutante. Sus datos sugieren que la deficiencia de biotina, resulta en muerte celular espontánea dependiente de la luz y modula la expresión de genes de defensa. El aislamiento y caracterización molecular de la mutante BIO-4, proporcionó una valiosa herramienta para dilucidar nuevas funciones de la biotina en las plantas.

En las plantas, el desarrollo embrionario requiere la síntesis de biotina, así como las funciones peroxisomales (Tanabe *et al.*, 2011). Se reportó que tanto los hongos como las plantas utilizan una vía evolutivamente conservada para la biosíntesis de biotina que es compartida con peroxisomas y mitocondria (Rébeillé *et al.*, 2007). Estas observaciones implican que la biosíntesis de biotina es una de las principales funciones de los peroxisomas durante el desarrollo embrionario de plantas. Futuros estudios basados en la analogía entre los hongos y las plantas podrán dar más conocimientos sobre la importancia de la biosíntesis de biotina y las funciones peroxisomales durante el crecimiento y desarrollo de las plantas (Maruyama *et al.*, 2012).

Sin embargo, los estudios antes mencionado se realizaron en condiciones de deficiencia y no existen a la fecha reportes donde se haya suplementado a sistemas vegetales con cantidades supranutricionales de biotina, como se ha realizado en los estudios en mamíferos. Por lo tanto, hasta la fecha no se han reportado mecanismos moleculares similares a los encontrados en mamíferos.

### Consideraciones finales

El estudio de los mecanismos moleculares de las vitaminas sobre la expresión génica, ha permitido entender varios de sus efectos sobre diversas funciones biológicas y el desarrollo de medicamentos usados en la actualidad en el tratamiento de gran diversidad de enfermedades (Hinds *et al.*, 1997; Vosper 2009). Estos conocimientos también han permitido conocer efectos adversos de las vitaminas y establecer normatividad para su uso.



Por lo tanto, el estudio de la biotina y su posible uso para el desarrollo de medicamentos a partir de ella, podría ser de gran utilidad en el tratamiento de enfermedades asociadas al síndrome metabólico (diabetes mellitus, dislipidemias, hipertensión, etc), las cuales son la principal causa de muerte en México (ESANUT, 2012) y en el mundo (Ettner *et al.*, 2012).

En cuanto a las investigaciones realizadas en plantas, sugieren fuertemente que la biotina es indispensable en el desarrollo embrionario y la defensa. Sin embargo, los estudios se realizaron en condiciones de deficiencia y no existen reportes donde se haya suplementado a sistemas vegetales con cantidades supranutricionales de biotina, como se ha realizado en los estudios en mamíferos. Actualmente nuestro grupo está realizando estudios en cultivos celulares de plantas, debido a que los cultivos de células en suspensión permiten elucidar procesos específicos de plantas completas en periodos cortos de tiempo. Así como también estudios a concentraciones supra fisiológicas en plantas (*Arabidopsis thaliana*), para dilucidar si al igual que lo hace en mamíferos, tiene un efecto sobre la proliferación celular que se refleje en una estimulación del crecimiento y el desarrollo de la arquitectura radicular. Lo que podría revelar nuevas pautas en la comprensión del efecto de la biotina en vegetales. Además, de generar conocimientos de ciencia básica, que permitirán identificar mecanismos de señalización importantes para el crecimiento y desarrollo de plantas con posibles aplicaciones biotecnológicas.

## Agradecimientos

Se agradece a PROMEP y CIC-UMSNH por financiar proyectos de investigación en nuestro laboratorio.

## Referencias

- Aguilera MA, Fernández MC. 2012. The hypotriglyceridemic effect of biotin supplementation involves increased levels of cGMP and AMPK activation. *BioFactors* 38:387-394.
- Alban C, Job D, Douce R. 2000. Biotin metabolism in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51:17-47.
- Albarracín C, Fuqua B, Geohas J, Finch M, Komorowski JR. 2007. Combination of chromium and biotin improves coronary risk factors in hypercholesterolemic type 2 diabetes mellitus: a placebo-controlled, double-blind randomized clinical trial. *J Cardimetab Syndr.* 2 (2): 91-7.
- Albarracín CA, Fuqua BC, Evans JL, Goldfine ID. 2008. Chromium picolinate and biotin combination improves glucose metabolism in treated, uncontrolled overweight to obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 24: 41-51.
- Arnal N, Alban C, Quadrado M, Grandjean O, Mireau H. 2006. The Arabidopsis Bio2 protein requires mitochondrial targeting for activity. *Plant Mol. Biol.* 62: 471-479.
- Báez SA, Zendejas RI, Revilla MC, Islas AS, Cardenas A, Rojas OA, Vilches A, Fernández MC. 2004. Effects of biotin on pyruvate carboxylase, acetyl-CoA carboxylase, propionyl-CoA carboxylase, and markers for glucose and lipid homeostasis in type 2 diabetic patients and nondiabetic subjects. *Am J Clin Nutr.* 79 (2): 238-243.
- Bailey LM, Ivanov RA, Wallace SW. 2008. Artfactual detection of biotin on histones by streptavidin. *Anal Biochem.* 373 (1): 71-77.
- Boas MA. 1927. The effect of desiccation upon the nutritive properties of egg-white. *Biochem. J.* 21 (3): 712-724.
- Coggeshall JC, Heggers JP, Robson, MC, Baker H. 1985. Biotin Status and Plasma Glucose in Diabetics. *Ann N Y Acad Sci.* 447: 389-392.
- Dakshinamurti K, Chauhan J. 1989. Biotin. *Vitamins and Hormones* 45:337-384.
- Dakshinamurti K, Chauhan J. 1994. Biotin-binding proteins. In: *Vitamin receptors: vitamins as ligands in cell communication.* U.S.A. pp.200-249. Cambridge University Press.
- Dakshinamurti K, Cheah-Tan C. 1968. Biotin-mediated synthesis of hepatic glucokinase in the rat. *Arch Biochem Biophys.* 127:17-21.
- Dakshinamurti K, Desjardins PR. 1968. Lipogenesis in biotin deficiency. *Can J Biochem.* 46:1261-7.
- Dakshinamurti K, Li W. 1994. Transcriptional regulation of liver phosphoenolpyruvate carboxykinase by biotin in diabetic rats. *Mol Cell Biochem.* 132:127-132.
- De la Vega L, Stockert R. 2000. Regulation of the insulin and asialoglycoprotein receptors via GMPc-dependent protein kinase. *Am J Physiol Cell Physiol.* 279 (6): C2037-C2042.
- De la Vega L, Stockert RJ. 1999. The cytoplasmic coatomer protein COPI-A potential translational regulator. *J Biol Chem.* 274 (44): 31135-31138.
- Dukusova OD, Krivoruchenko IV. 1972. The effect of biotin on the blood cholesterol levels of atherosclerotic patients in idiopathic hyperlipidemia. *Kardiologija.* 12:113.
- ESANUT. 2012. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012.* Instituto Nacional de Salud Pública. Gobierno Federal México. <http://ensanut.insp.mx/>.
- Ettner R, Ettner F, White T. 2012. Secrecy and the pathogenesis of hypertension. *Int J Family Med.* 2012: 1 -3.
- Griffin JB, Rodriguez MR, Dode L, Wuytack F, Zempleni J. 2006. Biotin supplementation decreases the expression of the SERCA3 gene (ATP2A3) in Jurkat cells, thus, triggering unfolded protein response. *J Nutr Biochem.* 17 (4): 272-281.
- Hardie DG, Ross F, Hawley S. 2012. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nature reviews* 13: 251-262.
- Hardie DG. 2011. AMP-activated protein kinase an energy sensor that regulates all aspects of cell function. *Genes Develop.* 25 (18): 1895-1908.
- Hassan YI, Zempleni J. 2006. Epigenetic regulation of chromatin structure and gene function by biotin. *J Nutr.* 136 (7): 1763-1765.
- Healy S, Perez CB, Jia D, McDonald MK, Davie JR, Gravel RA. 2009. Biotin is not a natural histone modification. *Biochim Biophys Acta.* 1789 (11-12): 719-33.
- Hinds TS, West WL, Knight EM. 1997. Carotenoids and retinoids: a review of research, clinical and public health applications. *J Clin Pharmacol.* 37 (7): 551-558.
- Hoi JT, Eissenberg JC, Shoemaker JD, Neckameyer WS, Ilvarsson AM, Harshman L, Schlegel G, Zempleni J. 2007. Feeding Drosophila a biotin-deficient diet for multiple generations increases stress resistance and lifespan and alters gene expression and histone biotinylation patterns. *J Nutr.* 137 (9): 2006-2012.

- Hymes J, Wolf B.** 1996. Biotinidase and its roles in biotin metabolism. *Clin Chim Acta.* 225 (1): 1-11.
- Knowles JR.** 1989. The mechanism of biotin-dependent enzymes. *Annu. Rev. Biochem.* 58:195-221.
- Kogl F, Tonnis B.** 1932. Über das Bios-Problem. *Darstellung von kristallisiertem Biotin aus Eigelb.* *Z. Physiol Chem.* 242: 43-73.
- Larrieta E, Velasco F, Vital P, Lopez AT, Lazo de la Vega MM, Rojas A, Fernández MC.** 2010. Pharmacological concentrations of biotin reduce serum triglycerides and the expression of lipogenic genes. *Eur J Pharmacol.* 644(1-3):263-8.
- Lazo de la Vega Monroy ML, Larrieta E, German MS, Baez SA, Fernandez MC.** 2013. Effects of biotin supplementation in the diet on insulin secretion, islet gene expression, glucose homeostasis and beta-cell proportion. *J Nutr Biochem.* 24(1):169-77.
- Leverit KL, Waldrop GL, Stephens JM.** 2002. A biotin analog inhibits acetyl-CoA carboxylase activity and adipogenesis. *J Biol Chem.* 277 (19): 16347-16350.
- Li J, Brader G, Helenius E, Kariola T, Palva ET.** 2012. Biotin deficiency causes spontaneous cell death and activation of defense signaling. *Plant J.* 70: 315-26.
- Li Y, Hassan YI, Moriyama H, Zempleni J.** 2013. Holocarboxylase synthetase interacts physically with euchromatic histone-lysine N-methyltransferase, linking histone biotinylation with methylation events. *J Nutr Biochem.* 8:1446-52.
- Maebashi M, Makino Y, Furukawa Y, Ohinata K, Kimura S, Takao S.** 1993. Therapeutic evaluation of the effect of biotin on hyperglycemia in patients with Non-Insulin Diabetes Mellitus. *J Clin Biochem Nutr.* 14:211-18.
- Marshall MW, Haubrich ML, Washington VA, Chang MW, Young CW, Wheeler MA.** 1976. Biotin status and lipid metabolism in adult obese hypercholesterolemic inbred rats. *Nutr Metab.* 20 (1): 41-61.
- Marshall MW, Kliman PG, Washington V, A., Mackin J, F., Weinland B, T.** 1980. Effects of biotin on lipids and other constituents of plasma of healthy men and women. *Artery.* 7 (4): 330-351.
- Maruyama J, Yamaoka S, Matsuo I, Tsutsumi N, Kitamoto K.** 2012. A newly discovered function of peroxisomes: involvement in biotin biosynthesis. *Plant Signaling Behavior.* 7 (12): 1-5.
- Nikolau BJ, Ohlrogge JB, Wurtele ES.** 2003. Plant biotin-containing carboxylases. *Arch Biochem. Biophys.* 414: 211-222.
- Pacheco AD, Solórzano VR, Gravel RA, Cervantes RR, Velázquez A, León Del Río A.** 2004. Paradoxical regulation of biotin utilization in brain and liver and implications for inherited multiple carboxylase deficiency. *J Biol Chem.* 279 (50): 52312-52318.
- Patton DA, Volrath S, Ward ER.** 1996. Complementation of an Arabidopsis thaliana biotin auxotroph with an Escherichia coli biotin biosynthetic gene. *Mol. Gen. Genet.* 251: 261-6.
- Peters DM, Griffin JB, Stanley JS, Beck MM, Zempleni J.** 2002. Exposure to UV light causes increased biotinylation of histones in Jurkat cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 283 (3): C878-C884.
- Pinon V, Ravanel S, Douce R, Alban C.** 2005. Biotin synthesis in plants: the first committed step of the pathway is catalyzed by a cytosolic 7-keto- 8-aminopelargonic acid synthase. *Plant Physiol.* 139: 1666-1676.
- Rébeillé F, Alban C, Bourguignon J, Ravanel S, Douce R.** 2007. The role of plant mitochondria in the biosynthesis of coenzymes. *Photosynth Res.* 2:149-62.
- Reddi A, De Angelis B, Frank O, Lasker N, Baker H.** 1988. Biotin supplementation improves glucose and insulin tolerances in genetically diabetic KK mice. *Life Sci.* 42: 1323-30.
- Revilla MC., Zendejas RI., Islas AS., Báez SA., Palomino GM, Hernández QP, Fernández MC.** 2006. Biotin supplementation reduces plasma triacylglycerol and VLDL in type 2 diabetic patients and in nondiabetic subjects with hypertriglyceridemia. *Biomed Pharmacother.* 60 (4): 182-185.
- Rodríguez MR, Camporeale G, Griffin JB, Zempleni J.** 2003. Interleukin-2 receptor  $\gamma$ -dependent endocytosis depends on biotin in Jurkat cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 284 (2): C415-C421.
- Rodríguez MR, Griffin JB, Sarath G, Zempleni J.** 2005. High-throughput immunoblotting identifies biotin-dependent signaling proteins in HepG2 hepatocarcinoma cells. *J Nutr.* 135(7): 1659-66.
- Rodríguez MR, Zempleni J.** 2003. Regulation of gene expression by biotin. *J Nutr Biochem.* 14 (12): 680-690.
- Rodríguez MR, Zempleni J.** 2009. Nitric oxide signaling depends on biotin in Jurkat human lymphoma cells. *J Nutr.* 139 (3):429-33.
- Rodríguez MR., Cano S, Mendez ST, Velazquez A.** 2001. Biotin regulates the genetic expression of holocarboxylase synthetase and mitochondrial carboxylases in rats. *J Nutr.* 131 (7): 1909-1913.
- Romero NG, Cabrera VG, German MS, Matschinsky FM, Velazquez A, Wang A, Fernandez MC.** 1999. Biotin regulation of pancreatic glucokinase and insulin in primary cultured rat islets and in biotin deficient rats. *Endocrinology.* 140:4595-4500.
- Sarawut J, Wallace JC.** 2003. The biotin enzyme family: conserved structural motifs and domain rearrangements. *Curr Prot Pept Scien.* 4 (3): 217-229.
- Scheerger SB, Zempleni J.** 2003. Expression of oncogenes depends on biotin in human small cell lung cancer cells NCI-H69. *Int J Vitam Nutr Res.* 73 (6), 461-467.
- Schneider T, Dinkins R, Robinson K, Shellhammer J, Meinke DW.** 1989. An embryo-lethal mutant of Arabidopsis thaliana is a biotin auxotroph. *Dev. Biol.* 131:161-7.
- Solorzano VS, Pacheco Alvarez D, León Del Río A.** 2002. Holocarboxylase synthetase is an obligate participant in biotin mediated regulation of its own expression and of biotin-depend carboxylases ARNm levels in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 99 (8): 5325-5330.
- Spence JT, Koudelka AP.** 1984. Effects of biotin upon the intracellular level of cGMP and the activity of glucokinase in cultured rat hepatocytes. *J Biol Chem.* 259 (10):6393-6.
- Stanley JS, Griffin JB, Zempleni J.** 2001. Biotinylation of histones in human cells: effects of cell proliferation. *Eur J Biochem.* 268 (20): 5424-5429.
- Stockert RJ, Ren Q.** 1997. Cytoplasmic protein ARNm interaction mediates GMPc-modulated translational control of the asialoglycoprotein receptor. *J Biol Chem.* 272 (4): 9161-5.
- Suchy SF, Wolf B.** 1986. Effect of biotin deficiency and supplementation on lipid metabolism in rats: cholesterol and lipoproteins. *Am J Clin Nutr.* 43:831-838.

- Sugita Y, Shirakawa H, Sugimoto R, Furukawa Y, Komai M.** 2008. Effect of biotin treatment on hepatic gene expression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 72(5):1290-1298.
- Tanabe Y, Maruyama J, Yamaoka S, Yahagi D, Matsuo I, Tsutsumi N, Kitamoto K.** 2011. Peroxisomes are involved in biotin biosynthesis in *Aspergillus* and *Arabidopsis*. *J Biol Chem.* 286(35):30455-61.
- Vesely D.** 1982. Biotin enhances guanylate cyclase activity. *Science.* 216 (4552): 1329-1330.
- Vilches FA, Fernández MC.** 2005. Efecto de la biotina sobre la expresión genética y el metabolismo. *Rev. Invest. Clin.* 57: 716-724.
- Vilches FA, Tovar AR, Marin HA, Rojas OA, Fernández MC.** 2010. Biotin increases glucokinase expression via soluble guanylate cyclase/protein kinase G, adenosine triphosphate production and autocrine action of insulin in pancreatic rat islets. *J Nutr Biochem.* 21 (7): 606-612.
- Vosper H.** 2009. Niacin: a re-emerging pharmaceutical for the treatment of dyslipidaemia. *Br J Pharmacol.* 158 (2): 429-441.
- Watanabe K, Kamiyama S, Horiuchi K, Ohinata K, Shirakawa H, Furukawa Y, Komai M.** 2008. Antihypertensive effect of biotin in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Br J Nutr.* 99 (4): 756-763.
- Wiedmann S, Rodriguez Melendez R, Ortega CD, Zempleni J.** 2004. Clusters of biotin-responsive genes in human peripheral blood mononuclear cells. *J Nutr Biochem.* 15 (7): 433-439.
- Zempleni J, Ch Y, Chew Y, Hassan I, Wijeratne S.** 2008. Epigenetic regulation of chromatin structure and gene function by biotin: are biotin requirements being met?. *Nutr Rev.* 66(Suppl 1): S46-S48.
- Zempleni J, Helm RM, Mock DM.** 2001. In vivo biotin supplementation at a pharmacologic dose decreases proliferation rates of human peripheral blood mononuclear cells and cytokine release. *J Nutr.* 131 (5): 1479-1484.
- Zempleni J, Teixeira DC, Kuroishi T, Cordoniera EL, Baier S.** 2012. Biotin requirements for DNA damage prevention. *Mutat Res.* 733(1-2): 58-60.
- Zempleni J.** 2005. Uptake, localization, and noncarboxylase roles of biotin. *Annu Rev Nutr.* 25: 175-196.
- Zhang H, Osada K, Maebashi M, Ito M, Komai M, Furukawa Y.** 1996. High biotin diet improves the impaired glucose tolerance of long-term spontaneously hyperglycemic rats with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Nutr Sci Vitaminol. (Tokyo)* 42: 517-26.