

Funciones de los nucleótidos de la dieta

Biological roles of dietary nucleotides

ÁNGEL GIL

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. 18071 Granada, España.

RESUMEN

Los nucleótidos desempeñan funciones esenciales en todos los seres vivos. La dieta contiene cantidades relativamente importantes de nucleótidos que pueden ser utilizados por los tejidos, especialmente por aquellos que presentan una tasa elevada de crecimiento. En el periodo neonatal la leche humana representa la fuente exclusiva de nucleótidos preformados para el recién nacido. En esta etapa los nucleótidos contribuyen a aumentar la biodisponibilidad del hierro y estimulan el crecimiento de las bifidobacterias intestinales, limitando a su vez el de las enterobacterias. Además, los nucleótidos de la dieta modulan la biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados y aumentan los niveles de lipoproteínas de alta densidad, así como las concentraciones de apoproteínas de origen intestinal A-I y A-IV en el periodo postnatal temprano. Por otra parte, los nucleótidos de la dieta modulan el sistema inmune, tanto en animales de experimentación como en el ser humano, estimulando la respuesta linfoproliferativa de las células T frente a mitógenos y dando lugar a una mayor producción de inmunoglobulinas tanto *in vitro* como *in vivo*. Finalmente, los nucleótidos de la dieta son utilizados por los tejidos de crecimiento rápido en procesos de reparación tras sufrir agresiones de origen diverso. Así, los nucleótidos mejoran la reparación del intestino delgado tras un proceso de diarrea crónica y malnutrición y limitan la incidencia y duración de la diarrea aguda en los lactantes. Además contribuyen a la recuperación de las lesiones hepáticas ocasionadas por la ingesta de algunas drogas como la tioacetamida en animales de experimentación.

Palabras clave: Nucleótidos; inmunidad; reparación tisular; metabolismo lipídico

ABSTRACT

Nucleotides play key roles in all living organisms. The diet contains relatively high levels of free nucleotides and nucleic acids which can be used as building blocks for cell nucleotides mainly in tissues with a rapid turnover. Human milk represents the exclusive source of nucleotides in early life. In this period nucleotides enhance the bioavailability of iron and stimulate the growth of intestinal bifidobacteria limiting that of enterobacteria. Moreover, dietary nucleotides increase high density lipoproteins levels and Apo A-I and Apo A-IV in newborn infants. Furthermore, dietary nucleotides modulate the immune system both in experimental animals and humans stimulating the lymphoproliferative response of T cells against mitogens and enhancing the *in vivo* and *in vitro* production of immunoglobulins. In addition, dietary nucleotides are preferentially utilized in tissue repair after injury particularly in those tissues exhibiting a high turnover. Thus, nucleotides

improve the small intestinal repair after a process of chronic diarrhoea and malnutrition and reduce the prevalence and duration of chronic diarrhoea in infants. Moreover, they increase the recovery of hepatic lesions induced by the intake of thioacetamide in experimental animals.

Key words: Nucleotides; immunity; tissue repair; lipid metabolism.

Recibido: 10-3-1994.

Aceptado: 22-3-1994.

BIBLID [0004-2427(1994) 35:1; 61-73]

INTRODUCCIÓN

Los nucleótidos juegan un papel importante en la mayoría de los aspectos del metabolismo. El ATP, un nucleótido derivado de la adenina, es la sustancia principal utilizada por todos los organismos para transportar la energía química. Los nucleótidos cíclicos, principalmente cAMP y cGMP actúan como efectores de hormonas en las células. Otros nucleótidos, como UDP-glucosa y CDP-colina, son intermediarios activados en la síntesis de numerosas biomoléculas. Además, los nucleótidos derivados de la adenina son componentes de coenzimas tales como NAD⁺, NADP⁺, FAD y CoA (1, 2).

La importancia biológica de los nucleótidos deriva fundamentalmente de que son las unidades básicas de los ácidos nucleicos, DNA y RNA, los cuales son vitales para todas las células ya que constituyen su material genético.

Los nucleótidos son compuestos de bajo peso molecular que poseen tres componentes característicos: una base nitrogenada, una pentosa y uno o más grupos fosfatos. La base nitrogenada deriva de dos componentes heterocíclicos, purina y pirimidina. Las bases pirimidínicas son citosina, timina y uracilo. Adenina y guanina son las bases púricas más importantes encontradas en organismos vivos. Otras bases como hipoxantina, xantina y orotato son intermediarios de las rutas metabólicas de las purinas y pirimidinas.

Los nucleósidos se forman a través de un enlace glicosídico entre una pentosa (ribosa o deoxirribosa) y una base nitrogenada. Los ésteres fosfatos de los nucleósidos se conocen como nucleótidos; el lugar más común de esterificación es el carbono 5' de la pentosa. Las letras A (adenina), G (guanina), C (citosina), T (timina), U (uridina), I (inosina), X (xantina), designan la base nitrogenada; estas letras van seguidas por las letras MP, DP o TP indicando el éster mono, di o trifosfato.

Los nucleótidos purínicos se forman en numerosos tejidos por síntesis *de novo* a partir de fosforribosil pirofosfato, glutamina, aspartato, glicina, bicarbonato y formato, éste último componente como formil tetrahidrofolato. La biosíntesis *de novo* de nucleótidos pirimidínicos se realiza a partir de bicarbonato, glutamina, aspartato y fosforribosil pirofosfato (1, 2). Sin embargo, los vertebrados no

Ars Pharmaceutica, 35:1; 61-73, 1994

pueden realizar la síntesis *de novo* de nucleótidos en aquellos tejidos que tienen un rápido recambio celular, como la mucosa intestinal, la piel, la médula ósea y los linfocitos. La síntesis se lleva a cabo por reutilización de bases y nucleósidos liberados del catabolismo de ácidos nucleicos de tejidos o de alimentos, a través de la vía de recuperación.

El ácido úrico es el producto final del catabolismo de las purinas en los mamíferos que, como el hombre, presentan un déficit de uricasa. Concentraciones excesivas de ácido úrico en sangre están asociadas con un gran número de enfermedades, como el síndrome de Lesch-Nyhan, la gota, acidosis diabética, alcoholismo agudo, deficiencia de glucosa 6-fosfatasa y leucemia. Niveles elevados de ácido úrico en sangre están también asociados con un número de hábitos dietéticos, que incluyen el ayuno y elevadas ingestas de fructosa, grasa, proteína y ácidos nucleicos. De los componentes derivados de la dieta que afectan a los niveles de ácido úrico séricos, los ácidos nucleicos son los que tienen mayor influencia. Una dieta libre de purinas produce una reducción aproximada de los niveles de ácido úrico plasmático de 1-1,2 mg/dl, mientras la ingesta de 4 g de RNA por día produce una elevación aproximada de 1,5 - 2 mg/dl (3). El catabolismo de pirimidinas produce β -alanina, ácido-aminoisobutírico, amonio y CO_2 . Muchos de los pasos iniciales de la degradación de pirimidinas son reacciones inversas de la última parte de su ruta sintética (1).

Es aparente que la mayoría de los tejidos tienen la capacidad de realizar la síntesis de nucleótidos purínicos por ambas vías, síntesis *de novo* y vía de recuperación. Sin embargo, algunos tejidos, particularmente médula ósea, leucocitos y enterocitos tienen limitada su capacidad para la síntesis de purinas a través de la vía *de novo* y preferentemente usan bases púricas y pirimidínicas preformadas. Para estas células la suplementación exógena puede ser importante para una funcionalidad óptima. El hígado es un órgano que realiza activamente la síntesis *de novo* de bases púricas y pirimidínicas, las cuales en parte son exportadas a otros tejidos con altos requerimientos debido a su rápido recambio celular. Estudios recientes han demostrado que en ausencia de nucleótidos de la dieta se activa la síntesis *de novo* de purinas y pirimidinas. La ingesta de una dieta con purinas y pirimidinas inhibe la síntesis *de novo* y activa la vía de la recuperación (4, 5).

CONTENIDO DE NUCLEÓTIDOS DE LA DIETA

Los nucleótidos están presentes de forma natural en los alimentos de origen animal y vegetal como nucleótidos libres y ácidos nucleicos. Existen amplias variaciones en las cantidades relativas de DNA, RNA, nucleótidos, nucleósidos y bases libres. La carne, el pescado y las legumbres secas son alimentos ricos

en nucleótidos mientras que vegetales, frutas, leche y huevos tienen bajos niveles de estos componentes. La carne tiene concentraciones relativamente más elevadas de nucleótidos, de adenina e hipoxantina que el pescado fresco, especialmente las sardinas y las anchoas, alimentos tradicionalmente prohibidos para sujetos con gota e hiperuricémicos. Dentro de las legumbres, las lentejas presentan los niveles más altos de adenina. El contenido total de purinas oscila entre 150-290, 135-410 y 60-230 mg/ 100 g y el total de RNA entre 50-400, 80-350 y 140-490 mg/100 g para carne, pescado y legumbres, respectivamente (6).

No existen datos del contenido total de pirimidinas en alimentos. Sin embargo, algunas nucleoproteínas contienen una relación equimolar de bases púricas y pirimidínicas por lo que se asume que el contenido de pirimidinas de los alimentos está dentro de un rango similar al del contenido de purinas.

Los nucleótidos libres están presentes en la leche de varios mamíferos. El perfil cualitativo y cuantitativo es específico de la especie: la leche de vaca contiene aproximadamente 6 mg/dl de nucleótidos, la leche de cabra alrededor de 45 mg/dl y la de oveja varía entre 50 a 150 mg/dl, dependiendo del período de lactación (7). La leche humana contiene alrededor de 7 mg/dl y esta concentración se mantiene prácticamente constante con independencia del período de lactación (8).

Desde un punto de vista cualitativo, la leche humana contiene al menos 12 nucleótidos diferentes, principalmente CMP, AMP, UDP-azúcares y carece de orotato. La leche de vaca sin embargo, contiene concentraciones relativamente altas de orotato (5-6 mg/dl) y solo trazas de CMP y AMP (7, 8).

La leche de cualquier especie sin procesar tiene cantidades relativamente elevadas de ácidos nucleicos debido al alto número de leucocitos presentes. La leche humana contiene entre 10 y 560 mg/dl de RNA y 1-12 mg/dl de DNA. Los amplios rangos citados reflejan diferencias debidas al estadio de lactación y al nivel socioeconómico (9). Sin embargo, la leche tratada presenta una menor concentración de ácidos nucleicos, ya que las células son eliminadas durante el proceso de clarificación previo al tratamiento térmico para la higienización.

El uso de nuevas fuentes de proteínas para la alimentación humana, derivadas usualmente de levaduras y algas, se ha limitado por su elevado contenido en ácidos nucleicos. Algunos estudios sugieren que el límite máximo de seguridad de RNA en la dieta es de 2 g/día. La ingesta de estos niveles de RNA produciría un incremento en el ácido úrico sérico de 1,1-1,8 mg/dl, y una excreción de ácido úrico urinario de 220-230 mg/24 horas para humanos normales (3). Por el contrario, el uso de nuevas dietas sintéticas en nutrición clínica, disminuyen o eliminan totalmente la ingesta de purinas y pirimidinas con diversas consecuencias fisiológicas que se considerarán más adelante.

Se ha valorado la ingesta diaria de componentes púricos en individuos sanos que toman una dieta normal. La ingesta de purinas de una dieta típica es de

aproximadamente 420 mg/día para las poblaciones orientales y alrededor de 560 mg/día para las occidentales (10).

ASPECTOS NUTRICIONALES Y BIOQUÍMICOS DE LOS NUCLEÓTIDOS DE LA DIETA

Se ha prestado poca atención a la importancia nutricional y bioquímica de los nucleótidos de la dieta, ya que se les ha considerado tradicionalmente como nutrientes no esenciales. Estudios recientes sugieren que los nucleótidos se comportan como nutrientes semiesenciales, especialmente en situaciones en las que una dieta inadecuada podría afectar a la proliferación de tejidos de rápido recambio.

Nucleótidos y absorción del hierro

Los nucleótidos de la leche humana, particularmente los de la inosina, facilitan la absorción intestinal de hierro. Algunos experimentos en animales han demostrado que el IMP aumenta la utilización tisular del hierro cuando se administra por vía parenteral y aumenta la absorción intestinal de hierro cuando se administra oralmente (11, 12). El mecanismo involucrado incluye la conversión de inosina a hipoxantina y xantina, catalizada por la xantin-oxidasa, lo que provoca una reducción y liberación del hierro unido a la ferritina.

Nucleótidos y microflora intestinal

Es bien conocido que la microflora intestinal de niños alimentados con leche materna es diferente de la de los niños alimentados con fórmulas lácteas. Los primeros tienen un alto porcentaje de bifidobacterias en sus heces y bajos niveles de enterobacterias. Por el contrario, los últimos presentan un alto número de enterobacterias, enterococos y clostridios, así como niveles relativamente bajos de bifidobacterias (13). Las bifidobacterias ejercen una función fisiológica positiva, en el sentido de que su actividad biológica provoca una disminución del pH intestinal, lo que limita el crecimiento de otras poblaciones bacterianas, algunas de ellas potencialmente patogénicas.

Nuestro grupo de trabajo ha demostrado que los nucleótidos de la dieta aumentan, tanto *in vitro* como *in vivo*, el crecimiento de las bifidobacterias intestinales (14). *B. adolescentis* fue la bifidobacteria más afectada en los estudios *in vivo*. Los nucleótidos podrían ejercer una inhibición o efecto competitivo con sustancias previamente presentes en el lumen intestinal, las cuales favo-

recerían el desarrollo de ciertos microorganismos sobre otros. Además, los nucleótidos podrían actuar como factores de crecimiento para varias especies de bifidobacterias. Recientemente hemos observado que la ingesta de una fórmula láctea suplementada con nucleótidos en cantidad y calidad equivalente a la de la leche humana da lugar a una menor incidencia y duración de diarrea aguda, en niños lactantes (15). Este efecto puede estar relacionado en parte con los cambios asociados a la microflora intestinal, mediados por los nucleótidos de la dieta.

Nucleótidos y metabolismo lipídico

La suplementación de nucleótidos a una fórmula láctea estándar en cantidad cualitativa y cuantitativamente similar a la de la leche humana, aumenta los niveles de colesterol-HDL en lactantes, aproximándose a los encontrados en niños alimentados con leche humana (16). Estos hallazgos sugieren que los nucleótidos de la dieta podrían jugar un papel en la síntesis de lipoproteínas a nivel hepático o del enterocito. En efecto, estudios recientes indican que los nucleótidos de la dieta dan lugar a un aumento de la apoproteína A-IV en recién nacidos prematuros (17); esta proteína, que forma parte de las HDL, es de origen intestinal exclusivo e interviene como activador de la lecitin-colesterol acil transferasa (LCAT) junto a la apoproteína A-I. Por otra parte, hemos comprobado que la actividad LCAT aumenta en el período neonatal como consecuencia de la ingesta de nucleótidos (18).

En diferentes estudios de nuestro grupo de trabajo, realizados tanto en niños pretérmino como a término, se ha podido demostrar que los nucleótidos de la dieta afectan a la composición de ácidos grasos de las fracciones lipídicas del plasma y de las membranas de los glóbulos rojos. Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga del plasma, tanto de la serie n-6 como n-3, están significativamente aumentados en los fosfolípidos y ésteres de colesterol de niños alimentados con una fórmula suplementada con nucleótidos cuando se comparan con los alimentados con una fórmula estándar. Resultados similares se han obtenido para fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y fosfatidilserina en los eritrocitos (19-24). Los ácidos grasos más afectados son 20:3 y 20:4 para la serie n-6 y 22:6 para la serie n-3.

Estos resultados sugieren que los nucleótidos de la dieta pueden influenciar la síntesis hepática o intestinal de AGPI posiblemente modulando la actividad ácido graso desaturasa. La maduración de la Δ -6 desaturasa ocurre en el momento del nacimiento pero puede retrasarse en algunos niños. Además, se conoce que la Δ -5 desaturasa presenta una actividad disminuida en la vida postnatal temprana. En un estudio reciente realizado en ratas en período de destete hemos observado que las actividades Δ -5 y Δ -4 desaturasa hepáticas

umentan por efecto de los nucleótidos de la dieta (25), aunque se desconoce el mecanismo molecular que conduce al incremento de actividad.

Nucleótidos e inmunidad

La malnutrición altera profundamente la inmunidad. Por ello se han llevado a cabo diversos estudios experimentales y clínicos para analizar la influencia de la nutrición sobre las defensas del huésped. La utilización de sistemas eficientes de nutrición parenteral y el desarrollo de una amplia gama de soluciones de nutrición enteral han conducido al uso de nutrientes específicos para mantener una respuesta inmune normal. La deficiencia de zinc o de ácidos grasos son ejemplos bien conocidos de sistemas depresores de la inmunidad mediada por células, dando lugar a una mayor supervivencia de injertos alógenicos de piel y a una disminución de la respuesta citotóxica primaria.

En los últimos años, se ha demostrado que una dieta libre de nucleótidos suprime la respuesta inmune celular tanto *in vitro* como *in vivo* dando lugar a un menor rechazo de aloinjertos en ratones Balb/C (26-27). Además, los nucleótidos de la dieta inducen una mayor respuesta linfoproliferativa frente a mitógenos en las células T (28-30), las cuales son necesarias para mantener la hipersensibilidad cutánea retardada (31, 32), una respuesta mediada por linfocitos T, y para el mantenimiento de una actividad fagocítica normal. Además el porcentaje de mortalidad de animales de experimentación en respuesta infecciones microbianas es significativamente mayor en los animales alimentados con una dieta exenta de nucleótidos (33, 34).

Tanto los polinucleótidos como los nucleótidos libres aumentan la producción de inmunoglobulinas humanas *in vitro* (35-38). Asimismo, la respuesta humoral a antígenos dependientes de células T, deprimida en ratones alimentados con una dieta deficiente en nucleótidos, se restaura al suplementar la dieta con una mezcla de nucleótidos y nucleósidos (39). Por otra parte, la suplementación de nucleótidos a la dieta da lugar a un aumento de las IgA e IgM en recién nacidos prematuros y reduce las infecciones respiratorias en niños malnutridos en período de recuperación (40).

Nucleótidos y crecimiento tisular

Gyorgy observó, en ratas al destete alimentadas con una dieta baja en proteínas suplementada con nucleótidos, un aumento de peso (41). Asimismo, se ha demostrado que hay una mayor incorporación de los nucleótidos de la dieta en el RNA y DNA hepático en ratas al destete que en ratas adultas (42).

Más recientemente Ogoshi *et al* (43) han demostrado, usando un modelo de

ratas hepatectomizadas al 70%, que una mezcla de nucleótidos y nucleósidos administrados por vía parenteral produce un aumento en la actividad mitogénica en las células hepáticas durante la regeneración, y ello conlleva un mejor balance nitrogenado. Estos estudios sugieren que una suplementación exógena de purinas y pirimidinas podría aumentar la proliferación celular y favorecer la recuperación después de una agresión.

La suplementación de nucleótidos a los medios de cultivo provoca un aumento en la proliferación de cultivos primarios de hepatocitos y células de hepatoma (44). Por otra parte, utilizando un modelo de cirrosis experimental inducida por tioacetamida, hemos observado que los nucleótidos de la dieta influyen favorablemente la recuperación disminuyendo la fibrosis hepática (45, 46).

En el intestino, en ausencia de nucleótidos de la dieta, la síntesis *de novo* de bases púricas y pirimidínicas se activa, mientras que cuando están presentes se inhibe y se activa la vía de recuperación (4, 47, 48). Así, durante un estado de rápido crecimiento, la disponibilidad de bases púricas procedentes del "pool" endógeno podría limitar el desarrollo intestinal especialmente durante un período de alta demanda, como infecciones o recuperación de una lesión intestinal.

Varias investigaciones apoyan la hipótesis de que los enterocitos no son completamente capaces de desarrollar la síntesis *de novo* de purinas. Savaiano *et al* (47) han demostrado *in vivo* e *in vitro* que los enterocitos no son capaces de sintetizar purinas a partir de glicina marcada. Sin embargo, LeLeiko *et al* (4, 48), han sugerido que en intestino de rata la ruta metabólica para la síntesis *de novo* de purinas puede estar inactivada a menos que se induzca por una dieta deficiente en purinas. Una dieta exenta de purinas incrementa la incorporación de glicina a adenina; sin embargo, una dieta baja en proteínas bloquea la respuesta de una dieta libre de purinas. Estos autores han indicado también que en la vía de recuperación, la actividad hipoxantín-guanín-fosforribosil transferasa (HGPRT) es mas alta en intestino delgado que en hígado y colon y que la dieta libre de purinas produce una disminución a nivel del mRNA específico para dicha enzima, así como una disminución del contenido proteico y RNA intestinal total (49).

Los nucleótidos de la dieta podrían jugar un papel importante en el mantenimiento del "pool" de nucleótidos intestinales ya que la enzima responsable de la vía de recuperación de purinas presenta una actividad elevada en intestino delgado, y la actividad de la enzima clave en la síntesis *de novo* de purinas, fosforribosil pirofosfato amido transferasa, está aumentada en una dieta libre de nucleótidos.

El intestino incorpora proporcionalmente mayores cantidades de nucleótidos que otros tejidos, por lo que es lógico pensar que se trata de un órgano que se afecta por la suplementación de nucleótidos a la dieta.

Estudios realizados por Uauy *et al* (50) en animales de experimentación han puesto de manifiesto que los animales alimentados con una dieta exenta de nucleótidos presentan menor cantidad de proteína, DNA y menor actividad maltasa en todas las porciones intestinales, siendo más acentuada la disminución en la porción proximal. Por el contrario, los animales alimentados con una dieta adicionada de nucleótidos presentan un mayor contenido proteico y de DNA así como mayor altura de vellosidades y mayor actividad maltasa.

Por otra parte, nuestro grupo de trabajo ha puesto de manifiesto que la suplementación de nucleótidos a la dieta durante la recuperación de ratas con diarrea crónica, producida por ingesta de lactosa, da lugar a incrementos significativos en las actividades de las disacaridasas intestinales así como a una elevación del DNA y RNA (51). Asimismo, la provisión de nucleótidos en la dieta condiciona una mayor reparación tisular. En efecto, los animales que ingieren la dieta suplementada presentan un menor grado de infiltración linfocitaria una elevación de la altura y de la superficie de las microvellosidades y una disminución en la profundidad de las criptas, con respecto a los animales controles (52).

Los nucleótidos de la dieta parecen tener un importante papel en el desarrollo y proliferación de tejidos con un rápido recambio celular como el intestino. La síntesis *de novo* de nucleótidos podría no ser suficiente para soportar el incremento de ácidos nucleicos necesarios para soportar la aceleración del crecimiento que se produce después de una alteración intestinal grave.

Trabajos recientes indican que los nucleótidos y los nucleósidos son captados eficazmente por células intestinales cultivadas (53, 54). En células no malignas de rata (IEC-6), el "pool" de nucleótidos es más pequeño que en los enterocitos colónicos de origen neoplásico (caco-2). Por consiguiente, la proliferación celular de las células IEC-6 es más dependiente del suministro externo de nucleótidos (53). Los nucleótidos aumentan la expresión de las enzimas del borde en cepillo de los enterocitos en células carcinogénicas, únicamente cuando se priva el medio de cultivo de glutamina. Sin embargo, en las células IEC-6, pobremente diferenciadas en medios óptimos y que requieren una membrana basal para la expresión de las enzimas, la adición de nucleótidos al medio da lugar a un aumento de la actividad enzimática (54).

Otros estudios realizados en animales de experimentación utilizando nutrición parenteral demuestran que mezclas de nucleótidos y nucleósidos muestran una mayor eficacia que la glutamina en el mantenimiento de la estructura y funcionalidad de la mucosa intestinal (55).

Todos estos resultados sugieren que los nucleótidos de la dieta pueden ser importantes para el crecimiento y desarrollo intestinal en la vida postnatal temprana, y de forma particular después de una agresión o lesión tisular. La inclusión de nucleósidos y/o nucleótidos en nutrición clínica tanto enteral como parenteral debe ser considerada en el futuro ya que podría condicionar una

mejor recuperación del intestino en pacientes con diversos síndromes gastroenterológicos y que cursan con afectación grave del intestino delgado.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) LEHNINGER, A. L.: *Principles of Biochemistry*. New York: Worth Publishers, 1982.
- (2) MCGILLIVRAY, R. W.: *Biochemistry a functional approach* Philadelphia. W. B: Saunders, 1983.
- (3) CLIFFORD, A. J.; RIUMALLO, J. A., YOUNG, V. R., SCRIMSHAW, N. S.: Effect of oral purines on serum and urinary uric acid of normal, hyperuricemic and gouty humans. *J Nutr*, 1976; 106:428-450.
- (4) LELEIKO, N. S., BRONSTEIN, A. D., BALIGA, S., MUNRO, H. N. Denovo purine nucleotide synthesis in the rat small and large intestine: Effect of dietary protein and purines. *J Ped Gastro Nutr*, 1983; 2:313-319.
- (5) LELEIKO, N. S., BRONSTEIN, A. D., MUNRO, N. H.: Effect of dietary purines on the de novo synthesis of purine nucleotides in the small intestinal mucosa. *Ped Res*, 1979; 13:403-409.
- (6) CLIFFORD, A. J., STORY, D. L.: Levels of purines in foods and their metabolic effects in rats. *J Nutr*, 1976; 106:435-442.
- (7) GIL, A., SÁNCHEZ-MEDINA, F.: Acid-soluble nucleotides of cow's, goat's and sheep's milk at different states of lactation. *J Dairy Res*, 1981; 48:35-44.
- (8) GIL, A., SÁNCHEZ-MEDINA, F.: Acid-soluble nucleotides of human milk at different stages of lactation. *J Dairy Res*, 1982; 49:301-308.
- (9) SANGUANSEMSRI, J., GYORGY, P., ZILLIKEN, F.: Polyamines in human and cow's milk. *Am J Clin Nutr*, 1974; 27:859-865.
- (10) KOJIMA, K.: Safety evaluation of disodium 5'-inosinate disodium 5'- guanylate and disodium 5'-ribonucleotide. *Toxicology*, 1974; 2:185-206.
- (11) CHENEY, B., FINCH, C. A.: Effect of inosine on iron absorption in rats. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1960; 103:37-38.
- (12) FAELLI, A., ESPOSITO, G.: Effect of inosine and its metabolites on intestinal iron absorption in the rat. *Biochem Pharmacol*, 1970; 19:2551-2554.
- (13) BRAUN, O. H.: Effect of consumption of human milk and other formulas on intestinal bacterial flora in infants. En Lebenthal, E. (ed.): *Textbook of Gastroenterology and Nutrition in Infancy*. Vol. 1. New York: Raven Press, 1981; 247-253.
- (14) GIL, A., CORRAL, E., MARTÍNEZ, A., MOLINA, J. A.: Effects of dietary nucleotides on the microbial pattern of feces of at term newborn infants. *J Cl Nut Gastroenterol*, 1986; 1:34-38.
- (15) BRUNSER, O., ESPINOZA, J., ARAYA, M., CRUCHET, S., GIL, A.: Effect of dietary nucleotide supplementation on diarrhoeal disease in infants. *Acta Paediatrica*, 1994; 83:188-191.
- (16) SÁNCHEZ-POZO, A., PITA, M. L., MARTÍNEZ, A., MOLINA, J. A., SÁNCHEZ-MEDINA, F., GIL, A.: Effects of dietary nucleotides upon lipoprotein pattern of newborn infants. *Nutr Res*, 1986; 6:763-771.
- (17) SÁNCHEZ-POZO, A., MORILLAS, J., MOLTÓ, L., ROBLES, R., GIL, A.: Dietary nucleotides influence lipoprotein metabolism in newborn infants. *Pediatr Res*, 1994; 35:112-116.
- (18) SÁNCHEZ-POZO, A., RAMÍREZ, M., GIL, A., MALDONADO, J., ROSSENEU, M.: *Ars Pharmaceutica*, 35:1; 61-73, 1994

- Dietary nucleotides enhance plasma lecithin-cholesterol acyl transferase and apolipoprotein A-IV concentration in preterm newborn infants. *Pediatr Res* (en prensa).
- (19) GIL, A.: Human milk nucleotides: Influences on the lipid metabolism of newborn infants. En: Symposium S82. Human milk recent knowledge. XVII International Congress of Pediatrics (Manila), 1983.
- (20) UAUY, R., GIL, A.: Fatty Acid Metabolism in the neonate: Effect of age, diet and nucleotides. Proceedings III International Symposium on Infant Nutrition and Gastrointestinal Disease (Brussels, Belgium) 1986; 65-75.
- (21) UAUY, R., SAITUA, M. T., CASSORLA, X., GIL, A.: Efectos de la Dieta, Nucleótidos y Edad postnatal sobre la Composición de Ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana del recién nacido. Avances en Nutrición de la Infancia Uniasa-Edda (eds.) (Granada, España), 1985; 133-146.
- (22) GIL, A., PITA, M. L., MARTÍNEZ, A., MOLINA, J. A., SÁNCHEZ-MEDINA, F.: Effect of dietary nucleotides on the plasma fatty acids in at term neonates. *Hum Nutr Clin Nutr*, 1986; 40c:185-195.
- (23) DELUCCHI, C., PITA, M. L., FAUS, M. J., MOLINA, J. A., UAUY, R., GIL, A.: Effects of dietary nucleotides on the fatty acid composition of erythrocyte membrane lipids in term infants. *J Ped Gastr and Nutr*, 1987; 6:568-574.
- (24) PITA, M. L., FERNÁNDEZ, M. R., DELUCCHI, C., MEDINA, A., MARTÍNEZ-VALVERDE, A., UAUY, R., GIL, A.: Changes in fatty acids pattern of red blood cell phospholipids induced by type of milk, dietary nucleotide supplementation and postnatal age in preterm infants. *J Ped Gastr and Nutr*, 1988; 7:740-747.
- (25) AYUDARTE, M. V., NÚÑEZ, M. C., BOZA, J. JR., JIMÉNEZ, J., GIL, A., SUÁREZ, M. D.: Changes in liver microsome lipids and plasma fatty acids induced by dietary orotate in the weanling rat. *Comparative Biochem and Physiol*, 1992; 103B (1):65-69.
- (26) VAN BUREN, C. T., KULKARNI, A. D., SCHANDLE, V. B., RUDOLPH, F. B.: The influence of dietary nucleotides on cell-mediated immunity. *Transplantation*, 1983; 36:350-352.
- (27) VAN BUREN, C. T., KULKARNI, A. D., RUDOLPH, F. B.: Synergistic effect of a nucleotide-free diet and cyclosporine on allograft survival. *Transplant Proc*, 1983; 15:2967-2968.
- (28) KULKARNI, S. C., BHATELEY, D. C., ZANDER, A. R., VAN BUREN, C. T., RUDOLPH, F. B., KULKARNI, A. D., DICKE, K. A.: T-cell impairment in mouse radiation chimeras by nucleotide-free diet (NFD). *Exp Hematol*, 1984; 12:694-699.
- (29) RUDOLPH, F. B., KULKARNI, A. D., SCHANDLE, V. B., VAN BUREN, C. T.: Involvement of dietary nucleotides in T lymphocyte function. *Exp Med Biol*, 1984; 165:175-178.
- (30) RUDOLPH, F. B., FANSLAW, E. C., KULKARNI, A. D., VAN BUREN, C. T.: Effect of dietary nucleotides on lymphocyte maturation. *Pediatr Res*, 1985; 19:773.
- (31) VAN BUREN, C. T., KULKARNI, A. D., RUDOLPH, F. B.: Nucleotide deprivation retards cutaneous hypersensitivity (DCH). *JPEN*, 1983; 6:582.
- (32) KULKARNI, A. D., SCHANDLE, V. B., RUDOLPH, F. B., VAN BUREN, C. T.: Suppression of delayed-type hypersensitivity (DTH) to SRBC mice fed nucleotide-free diet. *Fed Proc*, 1982; 41:589.
- (33) KULKARNI, A. D., FANSLAW, W. C., DRATH, D. B., RUDOLPH, F. B., VAN BUREN, C. T.: Influence of dietary nucleotide restriction on bacterial sepsis and phagocytic cell function in mice. *Arch Surg*, 1986; 121:169-172.
- (34) KULKARNI, A. D., FANSLAW, W. C., RUDOLPH, F. B., VAN BUREN, C. T.: Effect of dietary nucleotides on response to bacterial infections. *JPEN*, 1986; 10:169-171.

- (35) JYONOUCHI, H.: Nucleotide actions on humoral immune responses. *J Nutr* (Suppl), 1994; 124:138S-143S.
- (36) JYONOUCHI, H., HILL, R. J., GOOD, R. A.: RNA/nucleotide enhances antibody production in vitro and is moderately mitogenic to murine spleen lymphocytes. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1992; 200:101-108.
- (37) JYONOUCHI, H., HILL, R. J., VOSS, R. M., ISHII, E.: Immunomodulating actions of RNA and nucleotides on murine lymphocytes in vitro: augmentation of antibody production to T-dependent antigens and expansion of T-helper cells. *J Nutr Immunol*, 1993; 22:5-24.
- (38) JYONOUCHI, H., ZHANG, L., TOMITA, Y.: Studies of immunomodulating actions of RNA/nucleotides: RNA/nucleotides enhance in vitro immunoglobulin production by human peripheral blood mononuclear cells in response to T-dependent stimuli. *Pediatr Res*, 1993; 33:458-465.
- (39) JYONOUCHI, H., ZHANG, L., TOMITA, Y.: RNA/nucleotides enhance in vitro antibody and immunoglobulin production to T-dependent antigen but do not facilitate polyclonal B cell activation in both normal and autoimmune-prone NZB strains of mice. *J Nutr Immunol* (in press).
- (40) GIL, A., NÚÑEZ, M. C., NAVARRO, J., JIMÉNEZ, J.: *Nucleótidos y nutrición*. Granada, 1993. Doyma, ISBN: 84-604-5885-7.
- (41) GYORGY, P.: A hitherto unrecognized biochemical difference between human milk and cow's milk. *Pediatrics*, 1951; 11:98-107.
- (42) KUBOTA, A.: Nutritional study of nucleotide components in the milk. *Acta Paediatr Jap*, 1966; 73:197-205.
- (43) OGOSHI, S., IWASA, M., KITAGAWA, S., OHMORI, Y., MIZOBUCHI, S., IWASA, Y., TAMIYA, T.: Effects of total parenteral nutrition with nucleoside and nucleotide mixture on D-galactosamine-induced liver injury in rats. *JPEN*, 1988; 12:53-57.
- (44) OHYANAGI, H., NISHIMATSU, S., KANBARA, Y., USAMI, M., SAITOH, Y.: Effects of nucleosides and a nucleotide on DNA and RNA synthesis by the salvage and de novo pathway in primary monolayer cultures of hepatocytes and hepatoma cells. *JPEN*, 1989; 13:51-58.
- (45) FONTANA, L.: *Contribución de los nucleótidos de la dieta al tratamiento de la cirrosis experimental producida por tioacetamida*. Universidad de Granada, Facultad de Farmacia, Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular, 1993.
- (46) MOREIRA, E., FONTANA, L., PERIAGO, J. L., SÁNCHEZ-MEDINA, F., GIL, A.: Changes in fatty acids tissue composition in liver cirrhosis induced by oral intake of thioacetamide in rats. *Hepatology* (en prensa).
- (47) SAVAIANO, D. A., CLIFFORD, A. J.: Adenine the precursors of nucleic acids in intestinal cells unable to synthesize purines de novo. *J Nutr*, 1981; 111:1816-22.
- (48) LELEIKO, N. S., BRONSTEIN, A. D., MUNRO, H. N.: Effect of dietary purines on the de novo synthesis of purine nucleotides in the small intestinal mucosa. *Pediatr Res*, 1979; 13:403-409.
- (49) LELEIKO, N. S., MARTIN, B. A., WALSH, M., KAZLOW, P., RABINOWITZ, S., STERLING, K.: Tissue-specific gene expression results from a purine and pyrimidine-free diet and 6-mercaptopurine in the rat small intestine and colon. *Gastroenterology*, 1987; 93:1014-20.
- (50) UAUY, R., STRINGEL, G., THOMAS, R., QUAN, R.: Effect of dietary nucleosides on growth and maturation of the developing gut in the rat. *J Ped Gastroenterol Nutr*, 1990; 4:497-503.
- (51) NÚÑEZ, M. C., AYUDARTE, M. V., MORALES, D., SUÁREZ, M. D., GIL, A.: Effect *Ars Pharmaceutica*, 35:1; 61-73, 1994

- of dietary nucleotides on intestinal repair in rats with experimental chronic diarrhea. *JPEN*, 1990; 14:598-604.
- (52) BUENO, J. D., TORRES, M., ALMENDROS, A., CARMONA, R., NÚÑEZ, M. C., RÍOS, A., GIL, A.: Effect of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhea. Histological and ultrastructural changes. *Gut* (En prensa).
- (53) HE, Y., CHU, S. W., WALKER, W. A.: Nucleotide supplements alter proliferation and differentiation of cultured human (caco-2) and rat (IEC-6) intestinal epithelial cells. *J Nutr*, 1993; 123:1017-1027.
- (54) SANDERSON, I. R., WALKER, W. A.: Influence of nutrients on enterocyte gene expression: an early glimpse of the future. En: Proceedings of the Wyeth-Ayerst Symposium on Maternal-Child Issues in Nutrition, Excerpta Medica, Lawrenceville, NJ (en prensa).
- (55) IJIMA, S., TSUJINAKA, T., KIDO, Y., HAYASHIDA, Y., ISHIDA, H., HOMMA, T., YOKOYAMA, H., MORI, T.: Intravenous administration of nucleosides and a nucleotide mixture diminishes intestinal mucosal atrophy induced by total parenteral nutrition. *JPEN*, 1993; 17:265-270.