

Capítulo 3

Lactogénesis

O.F. Huertas-Molina^{1,2} MVZ, MSc; K. Vargas² MyB MSc;
M. Olivera-Angel² DMV, Dr. Sci.Agr.

1. Introducción

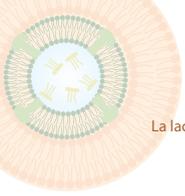
La lactogénesis es la habilidad de producir lactosa y consiste en un periodo de transición caracterizado por la diferenciación funcional de las células del tejido mamario, las cuales cambian de un estado no lactante (no secretorio) a lactante (secretorio) (McManaman & Neville, 2003; Truchet & Honvo-Houéto, 2017).

Este proceso se ha dividido en dos fases: 1) fase de activación secretoria o **lactogénesis I** donde, además de ocurrir diferenciación celular y

1. Agrosavia, San José del Nus, Antioquia, Colombia.

2. Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Biogénesis, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.





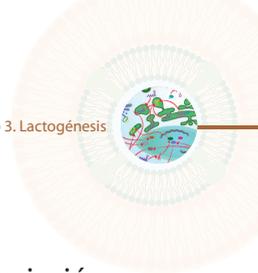
enzimática (Hurley, 2013; Neville, Neville, Mcfadden & Forsyth, 2002), se da la calostrogénesis (ver capítulo II. Calostrogenesis) y 2) fase de activación secretoria o **lactogénesis II**, caracterizada por la secreción copiosa de leche (Neville & Morton, 2001; Preusting, Brumley, Odibo, Spatz & Louis, 2017).

2. Lactogénesis I, preparando la maquinaria

En esta etapa, que es un periodo de transición, las CEM, llamadas también lactocitos, experimentan diferenciación enzimática y celular que las lleva a un estado presecretorio. En esta fase las organelas se polarizan, es decir, se trasladan hacia el tercio basal de las CEM. Durante la lactogénesis I también se produce el calostro, que está compuesto entre otros por fracciones de la leche y por inmunoglobulinas maternas (ver capítulo II. Calostrogénesis) (Anderson, Rudolph, McManaman & Neville, 2007; Hurley, 2010).

Pocos días antes del parto, el número y el tamaño de algunas organelas incrementa considerablemente (Tabla 1) y aparecen vesículas secretoras (VS) y gotas lipídicas que son liberadas posteriormente al lumen alveolar (Truchet & Honvo-Houéto, 2017).

La diferenciación y actividad de la CEM es determinada por las concentraciones de ADN y ARN. En el estado no secretorio, es decir, cuando la vaca está en periodo seco, la relación ARN/ADN es menor a 1 (los genes no se están transcribiendo). Después, cuando empieza la etapa de diferenciación, esta relación incrementa 2 a 1, pues la concentración de ARN mensajero (ARNm) aumenta debido a la transcripción de los genes implicados (Salama, 2005). Este ARNm se traduce en las proteínas que generan los cambios enzimáticos necesarios para la producción de leche. Por otro lado, las concentraciones de ADN son indicadores del nú-



mero de células y expresión de genes que promueven la diferenciación enzimática (Osorio, Lohakare & Bionaz, 2016).

Los cambios en esta etapa incluyen síntesis de Acetil-CoA carboxilasa, ácido graso sintetasa y otras enzimas asociadas con la lactogénesis. Además, hay un incremento en los sistemas de transporte de aminoácidos, glucosa, ácidos grasos, proteínas y otros sustratos necesarios para la síntesis de lactosa (Hurley, 2010; Wall & Mcfadden, 2012), así como de la α -lactoalbúmina, caseína y β -lactoglobulina (Bionaz, Hurley & Loor, 2012). Es decir, de todos componentes de lo que se llama la leche.

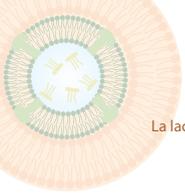
La alta concentración de potasio en la CEM hace que el sodio (Na^+) sanguíneo circulante se concentre en el fluido extracelular basal; sin embargo, la falta de sellamiento entre las CEM por las uniones estrechas hace que agua y Na^+ puedan pasar al lumen alveolar y la lactosa al fluido extracelular (Hurley, 2010; Neville & Morton, 2001; Rezaei, Wu, Hou, Bazer & Wu, 2016).

Tabla 1. Diferenciación celular durante la Lactogénesis I y II

Diferenciación secretoria	
Lactocito parto	Lactocito lactante
Núcleo grande, irregular y disperso	Núcleo mediano, redondeado ubicación basal
Retículo endoplásmico liso pequeño	Hipertrofia
Aparato de Golgi pequeño	Incremento de microvellosidades
Escasas microvellosidades	Aumento del número de mitocondrias
Escasas mitocondrias	Aumento de gotas lipídicas
Escasas gotas lipídicas	Numerosas vesículas secretorias
Escasas micelas de caseína	Aumento en las micelas de caseína

Fuente: Hurley, 2010.





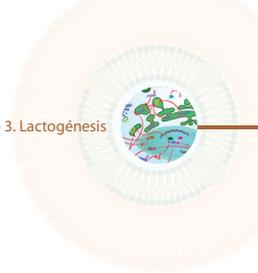
3. Lactogénesis II, secreción copiosa de leche

En la vaca, la secreción copiosa de leche comienza en los últimos cuatro días previos al parto y se extiende hasta dos o tres días después de este. Al inicio disminuye el nivel plasmático inhibitorio de la progesterona e incrementan las concentraciones sanguíneas de prolactina, glucocorticoides y estrógenos asociados al parto (Hurley, 2013, 2010). Al mismo tiempo se completa el cierre de las uniones estrechas entre los lactocitos, que incrementan la tensión de unión entre ellos, impidiendo el intercambio de solutos entre el lumen alveolar y la membrana basolateral (Nguyen, Parlow & Neville, 2001). Estas uniones estrechas impiden el paso de la lactosa desde el lumen alveolar hacia el espacio intercelular basal y de Na^+ hacia el lumen alveolar (Anderson et al., 2007). El aumento de fuerza de las uniones estrechas cuenta como el evento celular más relevante y marca el inicio de la etapa II de la lactogénesis.

4. Hormonas del complejo lactogénico

Los cambios hormonales son los inductores de la lactogénesis antes del parto. Las principales hormonas del complejo lactogénico son la progesterona, los corticoides y la prolactina (Capuco & Ellis, 2013; Macias & Hinck, 2013).

La concentración de progesterona alta durante la gestación induce la proliferación de los lactocitos y la preparación de la maquinaria celular (núcleo, ribosomas, retículo endoplásmico liso y rugoso, entre otros); sin embargo, estos niveles de progesterona mantienen una acción inhibitoria sobre la lactogénesis (Hurley, 2013; Neville & Morton, 2001). Al momento del parto, el incremento de los glucocorticoides, cortisol y corticosterona y el descenso de progesterona están asociados con el



incremento de disponibilidad de glucosa —precursor de la lactosa— en el tejido mamario (Wall & Mcfadden, 2012).

La prolactina incrementa significativamente dos o tres días antes del parto y directamente o por factores de transcripción participa activamente en el desarrollo mamario (Capuco & Ellis, 2013). Esta hormona es el mayor contribuyente de la regulación, porque induce la expresión de los receptores GLUT insulino-independientes de la glándula mamaria, así como la expresión de los genes de la α -lactoalbúmina (LALBA) y β -1,4-galactosil transferasa (B4GALT1) (Bionaz & Loor, 2011). La prolactina (PRL) y la hormona de crecimiento (GH) inducen en la CEM la producción del factor de crecimiento insulínico (IGF) - I, IGF-II, IGF-III, IGF-IV, IGF-V, IGF-VIII e IGF-XII, además inducen la expresión de receptores de insulina, de proteínas de unión a la IGF y de cotransportadores de sodio/ glucosa (Ostrowska, Jarczak & Zwierzchowski, 2015).

5. Transporte de solutos y vías de secreción

La región basal de la CEM está en contacto con las células mioepiteliales y el espacio extracelular que separa el epitelio de los vasos sanguíneos y el estroma (Figura 1).

Las barreras que evitan el paso de sustancias exógenas desde el estroma o la sangre hasta la leche son: 1) las membranas del estroma (tejido adiposo y fibroblastos) y de la vasculatura, 2) el espacio extracelular, 3) la membrana basolateral (MPB) de la CEM, 4) las uniones estrechas y GAP, 5) la membrana del aparato de Golgi y 6) la membrana plasmática apical (MPA) del lactocito (McManaman & Neville, 2003) (Figura 1).

El paso de solutos hacia el lumen alveolar puede ocurrir mediante mecanismos de transporte transcelulares o de mecanismos paracelulares.



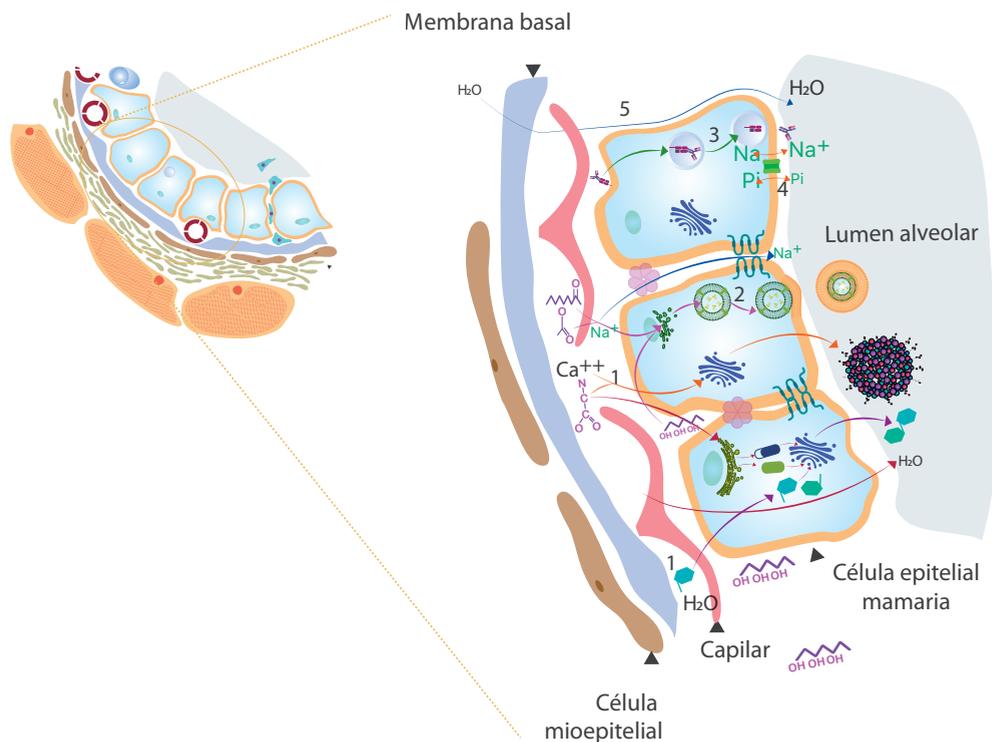


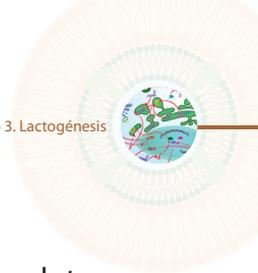
Figura 1. Barreras de internalización y paso de solutos

Paso de solutos hacia el lumen alveolar: **1)** vía exocítica por medio de vesículas secretorias, **2)** vía de secreción de lípidos, **3)** vías de transcitosis, **4)** transporte de iones y **5)** vía de secreción paracelular

Fuente: O.F Huertas--Molina, M. Olivera-Angel, K. Vargas, 2019

Convenciones

	Acetato		Aminoácido		Triglicérido
	Gap cerrada		Gap abierta		Caseína
	α Lactoalbumina		Glicerol		Inmunoglobulina
	Glucosa		Gota lipídica		Uniones estrechas
	LCFA		Galactosiltransferasa		FcRn
	Lactosa		Vesícula secretoria (VS)		Galactosa
	Macrogota lipídica		Aparato de Golgi		



Se han descrito 5 rutas de la vía de secreción y transporte de solutos (McManaman & Neville, 2003; Truchet & Honvo-Houéto, 2017), a saber:

Vía de secreción exocítica

Esta vía es el mecanismo primario de secreción de proteínas y lactosa (almacenadas o sintetizadas en el aparato de Golgi) desde el citosol hasta el lumen alveolar. Las proteínas y la lactosa salen de la organela envueltas en una VS que se desplaza a través del citosol hacia la membrana apical, donde se fusionan para liberar su contenido a la leche mediante exocitosis (McManaman & Neville, 2003; Osorio et al., 2016) (Figura 1).

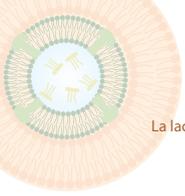
Vía de secreción de lípidos como glóbulos grasos de la leche

Un glóbulo graso de la leche es la condensación de triglicéridos envueltos en una bicapa lipídica del retículo endoplásmico liso (REL), que a su vez sale envuelta en la bicapa lipídica membranal del MPA. Esta vía se usa para la secreción de los lípidos de la leche, los cuales son sintetizados en el REL a partir de ácidos grasos, glicerol y cuerpos cetónicos para dar lugar a la formación de triglicéridos (98% de la grasa sintetizada) y fosfolípidos (2% de la grasa sintetizada). Los lípidos son liberados del REL en forma de gotas citoplásmicas lipídicas, las cuales se fusionan entre ellas dentro del citosol y luego son secretadas al lumen alveolar, envueltas en la bicapa lipídica membranal, como glóbulos grasos de la leche (Bionaz & Loor, 2008; McManaman & Neville, 2003; Truchet & Honvo-Houéto, 2017) (Figura 1).

Vía de transcitosis

Después de su endocitosis mediada por receptores en el lado basal de las CEM, algunas moléculas intersticiales ingresan al lumen de la célula;





las moléculas maduran en el endosoma y se transportan a la MPA solas o en complejo con su receptor, donde se secretan por exocitosis, mientras que su receptor se degrada o se recicla hasta llegar de nuevo a la MPB. La transcitosis se ha descrito para el transporte de la inmunoglobulina A, insulina, prolactina, albúmina sérica, transferrina, IGF-1 y lipoproteínas de baja densidad. Es de destacar que la fusión de algunos endosomas maduros con las VS puede ocurrir en el MPA antes de la exocitosis de su contenido (Boisgard, Chanut, Lavialle, Pauloin & Ollivier-Bousquet, 2001; Truchet & Honvo-Houéto, 2017; Truchet & Ollivier-Bousquet, 2009) (Figura 1).

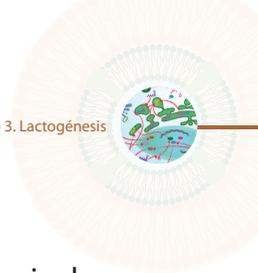
Vía de transporte de membrana

Bajo esta categoría se clasifican diferentes tipos de transporte (específicos de cada soluto), mecanismos de transporte de iones monovalentes y polivalentes y pequeñas moléculas como glucosa y aminoácidos. La transferencia de estas sustancias desde la sangre hacia la leche por esta vía requiere la presencia de transportadores específicos de la membrana basal y apical o de la membrana de Golgi y de la VS. El transporte del agua a través de la Acuaporina-3, ubicada en BPM y APM (McManaman & Neville, 2003; Truchet & Honvo-Houéto, 2017), también se hace por esta vía (Figura 1).

Vía de transporte paracelular

El transporte a través de la vía paracelular es directo y bidireccional, permite el paso de soluto de alto y bajo peso molecular entre el lumen alveolar y el espacio intersticial durante la preñez, involución o eventos de mastitis (Truchet & Honvo-Houéto, 2017).

Las CEM están unidas entre sí por uniones estrechas que antes y durante la etapa de lactogénesis I presentan “agujeros” que permiten difusión



de moléculas de pequeño tamaño en dos vías (Figura 1B). Las principales moléculas son sodio, potasio y lactosa (Hurley, 2010; McManaman & Neville, 2003). Antes de que se incremente la fuerza entre las uniones estrechas (lactogénesis II), la CEM, que tiene altas concentraciones internas de potasio, hace que el sodio sanguíneo circulante se concentre en el fluido extracelular del epitelio alveolar. Por otro lado, las concentraciones de sodio en el lumen alveolar son muy bajas, lo que hace que el elemento tienda a difundirse entre las CEM y, por lo tanto, incrementa su concentración en el lumen. Por lo anterior, en la etapa de lactogénesis I el Na^+ en leche es relativamente más alto (Hurley, 2010; Rezaei et al., 2016) (Figura 1).

El epitelio mamario secreta pocas cantidades de lactosa hacia el lumen alveolar, pero como las uniones son laxas, se encuentra lactosa tanto en lumen como en fluido extracelular. Finalmente, el aumento de fuerza entre las uniones estrechas de los lactocitos impide la interacción entre los componentes del lumen alveolar y el fluido extracelular, lo que hace que el número relativo de solutos incremente en el primero. Así, se marca definitivamente el inicio de la etapa II de la lactogénesis (Neville & Morton, 2001; Rezaei et al., 2016).

6. Elaboración y exocitosis de los tres grandes componentes de la leche

6.1 La lactosa

La lactosa se produce a partir de dos moléculas de glucosa. A continuación, se describe el mecanismo de producción y exocitosis (Figura 2).

Después de la absorción de glucosa por los receptores GLUT-1 en la membrana basolateral de la CEM, algunas de estas moléculas ingresan al aparato de Golgi a través de un GLUT-1, mientras que las otras deben



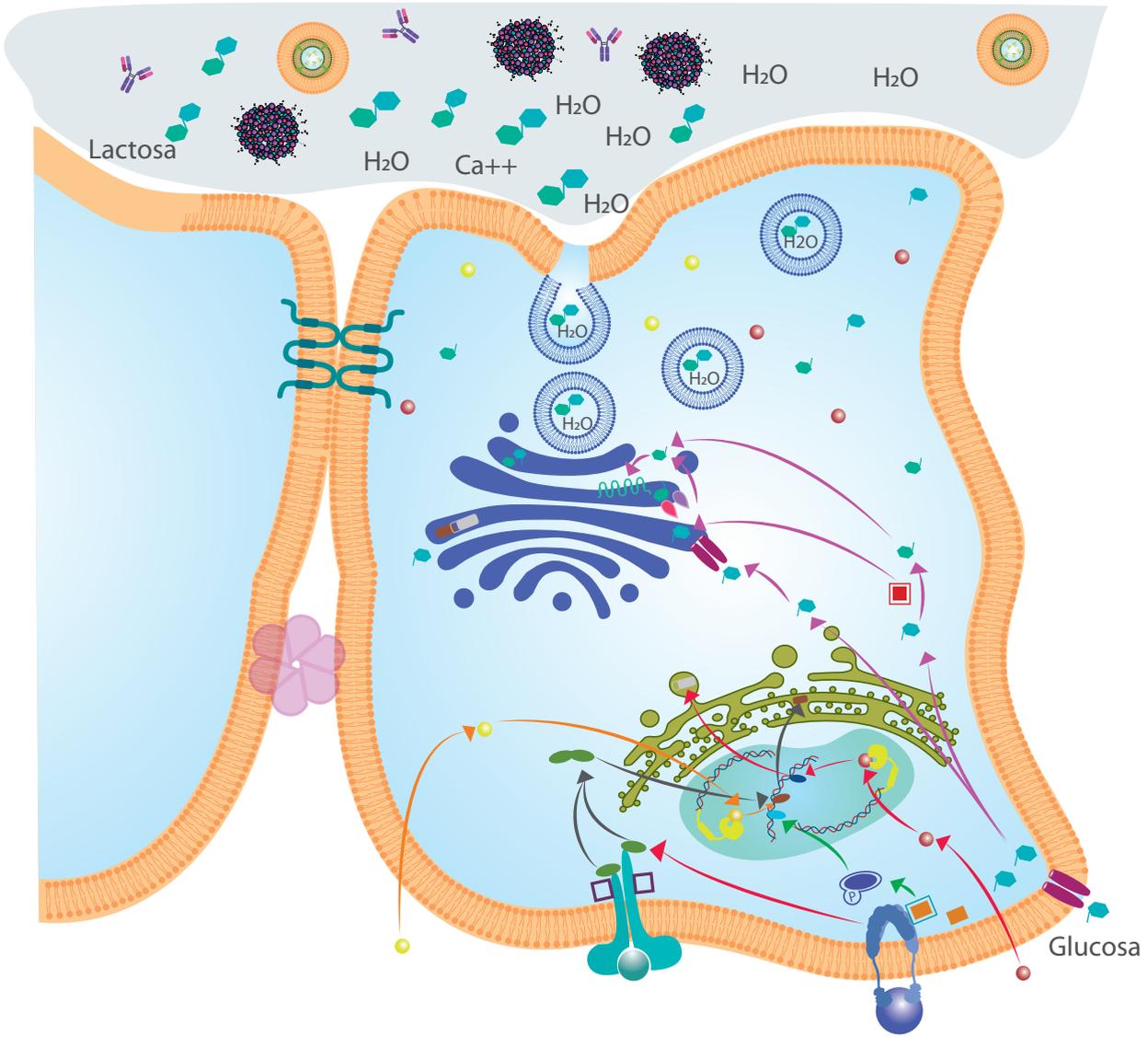
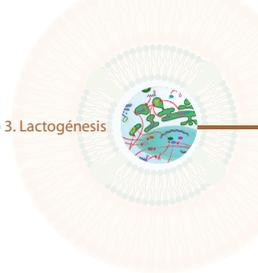


Figura 2. Vía de producción de la lactosa, desde el ingreso de la glucosa hasta la exocitosis de la lactosa

Fuente: O.F. Huertas-Molina, M. Olivera-Angel, K. Vargas, 2019



Convenciones

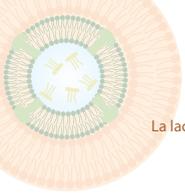
	Inmunoglobulina		Receptor insulina		Receptor prolactina
	Glucosa		Aparato de Golgi		Insulina
	α Lactoalbumina		Prolactina		Estradiol
	β Galactosiltransferasa		Cortisol		Glucosa G Fosfatasa
	Galactosa		Lactosa		SLC35A2
	Globulo graso		STAT5		PDK
	α Gen de α -LALBA		PBK		mTOR
	Gen GLUT		Receptor GLUT		UGP2
	β Gen de UGP2, Gen de B4GALT1		PGM1		Receptor nuclear para estradiol y cortisol

convertirse en galactosa. En este proceso la glucosa se fosforila a glucosa-6 fosfato y se une con uridina-di-fosfato (UDP) para formar UDP-glucosa, la que, a su vez es convertida a UDP-galactosa por las enzimas UDP-glucosa pirofosforilasa 2 (UGP2) y fosfoglucomutasa 1 (PGM1).

Esta última enzima permite el ingreso de UDP-galactosa al aparato de Golgi por medio del transportador 2 de UDP-galactosa (SLC35A2). El aparato de Golgi sintetiza la lactosa por la combinación de una molécula de UDP-galactosa y una de glucosa. Esta síntesis está inducida por el complejo lactosa sintasa, a su vez compuesta por B4GALT1 y LALBA (Bionaz et al., 2012; Osorio et al., 2016). LALBA otorga especificidad a B4GALT1 para que se una la glucosa con la UDP-galactosa.

La presión osmótica de la lactosa estimula el ingreso de agua al aparato de Golgi desde el citosol y es allí donde se forma la VS de doble membrana que contiene lactosa y agua. La VS sale al citoplasma y es dirigida al borde apical de la célula, donde se fusionan sus membranas con la



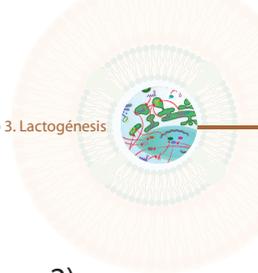


membrana celular. La lactosa queda entonces dentro, junto con varias moléculas de agua, y así es exocitada (Nickerson & Akers, 1984). La lactosa, a través de su efecto osmorregulador, hace que ingrese más agua al lumen de los alvéolos y, por consiguiente, le da volumen a la leche producida (Hurley, 2010).

La producción de lactosa está influenciada por las distintas hormonas del complejo lactogénico (insulina, prolactina, glucocorticoides y estrógenos), dependiendo de la etapa de gestación, momento del parto, frecuencia del ordeño e involución de la glándula mamaria (Bionaz et al., 2012; Osorio et al., 2016).

La expresión de los genes involucrados en la maquinaria de ensamble de lactosa depende de la prolactina y de la insulina que, unidos a su respectivo receptor, son los principales reguladores del transductor de señales y activador transcripcional de glucocorticoides 5 (STAT5). Este último inicia la traducción en la región promotora del gen de *LALBA* que codifica para la producción de LALBA (Bionaz et al., 2012; Xu, Ji, & Yan, 2012). También los glucocorticoides unidos a su receptor nuclear inducen la activación de este gen a través de una sinergia con STAT5. Los estrógenos regulan la expresión del gen que codifica la *B4GALT1* por una vía nuclear directa (Choi et al., 2012). La activación (Bionaz et al., 2012) de los genes *LALBA* y *B4GALT1* incrementa al inicio de la lactogénesis I (Osorio et al., 2016).

La captación de glucosa depende de la expresión de los receptores GLUT (Figura 2 y 3), la cual está mediada por la unión de la insulina a su receptor. Una vez activo este primer mensajero, se induce la fosforilación y activación del blanco de rapamicina de células de mamífero (mTOR). Luego, mTOR, por medio de la proteína quinasa D (PKD), activa los genes de captación de glucosa que son los que transcribirán para que se exprese su receptor. Para la producción de galactosa, el mTOR



activa el gen *UGP2* (Bionaz et al., 2012; Bionaz & Loor, 2008) (Figura 2).

Mientras no es requerido, mTOR es inhibido por el complejo de esclerosis tuberosa (TSC). Para desactivar esta acción inhibitoria, la insulina, unida a su receptor por medio de la vía proteína quinasa B (PKB), bloquea la TSC. mTOR también tiene la capacidad de autoregularse al bloquear la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) (Bionaz et al., 2012).

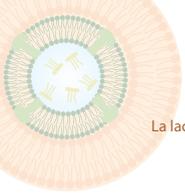
6.2 La proteína

Las principales proteínas de la leche son las caseínas (α -S1, α -s2, β y κ) (Figura 3) y las proteínas séricas (α -lactoalbúmina, β -lactoglobulina, albúmina e inmunoglobulinas). También se encuentran muchas otras proteínas como osteopontina, relaxina, lactoferrina, transferrina, lisozima, lactoperoxidasa e inmunoglobulinas secretorias (IgA e IgM). Las membranas del glóbulo graso, también compuesta de proteínas, representan del 1 al 4% de las proteínas totales de la leche (Bionaz et al., 2012).

Las α -caseínas y β -caseínas se encuentran en formas multi-fosforiladas (s2, s3, s4, s5 y s6) y son sintetizadas en la CEM como repuesta a la acción de la prolactina (Dahanayaka, 2016). Por otro lado, la β --caseína, cuya función es estabilizar la micela (Rezaei et al., 2016) (Figura 3), es una glicoproteína que consiste en fragmentos C-terminales de la β -caseína. Dentro del alvéolo, por degradación proteolítica de la plasmina, la β -caseína se convierte en β -caseína.

La estructura, síntesis y secreción de caseína dependen directamente de la disponibilidad de aminoácidos y glucosa en la dieta (Osorio et al., 2016). Además, se necesitan las vías endocrinas de la prolactina, insulina y el cortisol que sirven como factores de expresión o activadores de factores de transcripción como mTOR y STAT5 (Bionaz & Loor, 2011; Groner, 2002; Sarbassov, Ali, & Sabatini, 2005).



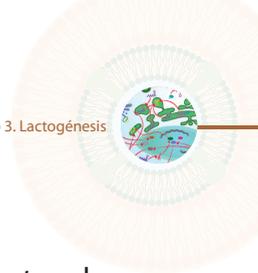


La insulina y la prolactina, unidos a sus receptores, regulan la síntesis de proteínas de manera indirecta a través de la activación de STAT5 por la vía JAK-2, que induce la expresión de la región ELF5, la cual contiene el gen de κ caseína (CSN3) y LALBA (Bionaz & Loor, 2008) (Figura 3). Adicionalmente, el cortisol, unido a su receptor nuclear, actúa como co-activador de STAT5 (Groner, 2002), lo que resulta en mayor expresión de la región ELF5 (Bionaz & Loor, 2011).

Al unirse la insulina con su receptor y sus dos subunidades —PDK y PKB— también se activa la vía de mTOR. mTOR es la principal mediadora de la biosíntesis de caseína por sus funciones como inductor de la traducción (Bionaz & Loor, 2011), pues fosforila la proteína de unión al factor eucariótico de iniciación de la traducción (4E-BP1). Esto a su vez permite que el factor eucariótico de iniciación de la traducción (EIF4E) forme un complejo con otros factores (Salama et al., 2019) y entonces se una a la subunidad 40S del ribosoma, dando lugar al complejo de pre-iniciación 43S, encargado de iniciar la traducción de mRNA mensajero en proteína (Bionaz et al., 2012).

Hay 3 mecanismos adicionales por medio de los cuales mTOR también contribuye a la biosíntesis proteica (Bionaz et al., 2012):

- (1) Incrementa la activación de subunidad 40S ribosomal a través de la fosforilación de la proteína ribosomal S6 quinasa (S6K1), que al mismo tiempo fosforila a la proteína ribosomal s6 (RPS6).
- (2) Esta última proteína, además, funciona como regulador post-transcripcional para la elongación de las proteínas en los ribosomas del retículo endoplásmico rugoso (RER), porque inhibe la quinasa del factor eucariótico de elongación (EEF2K), permitiendo el proceso de elongación proteico mediado por el factor eucariótico de elongación 2 (EEF2) activado.



- (3) El tercer mecanismo ocurre cuando mTOR actúa como factor de transcripción para la captación de glucosa y aminoácidos, mediada por la expresión de los genes (4F2hc, LAT1, ASCT2, GLUT1, GLUT3 y GLUT12) encargados de estos dos procesos (Bionaz et al., 2012; Zhao & Keating, 2010).

Se ha observado que mTOR es capaz de autoregularse mediante la captación de glucosa (Curtis et al., 2013; Liu, Zhao, & Liu, 2013). La glucosa produce ATP en la mitocondria por la vía del piruvato y así bloquea la AMPK y TSC inhibidores de la activación de mTOR (Bionaz et al., 2012; Sarbassov et al., 2005; Toerien, Trout & Cant, 2009).

La captación de aminoácidos también contribuye a la activación de mTOR cuando incrementa la expresión de sus transportadores o por medio de la vía fosfatidil inositol quinasa 3 (vps34) (Bionaz & Loor, 2008; Lei, 2012). La leucina (Rulquin & Pisulewski, 2006) y otros aminoácidos son capaces de intervenir directamente en el inicio de la traducción mediante la activación de la subunidad 40S del ribosoma o indirectamente mediante la fosforilación de la S6K1 (Kim & Wu, 2009; Rezaei et al., 2016; Rius et al., 2010).

Tanto las caseínas, la β -lactoglobulina y la α -lactoalbúmina son entonces sintetizadas en el RER y transportadas al aparato de Golgi (Bionaz & Loor, 2011). Las caseínas se unen covalentemente tanto al fósforo como al calcio (Ca^{++}) que ingresa a la CEM por canales dependientes de ATP. Así, se ensamblan en miscelas y después se envuelven en VS para ser liberadas al citoplasma, donde se transportan por medio de microtúbulos hacia la zona apical de la CEM (Dahanayaka, 2016; Haenlein & Wendorff, 2006). La membrana apical y la VS se fusionan y generan una apertura a través de la cual su contenido es descargado al lumen del alvéolo (Rezaei et al., 2016).



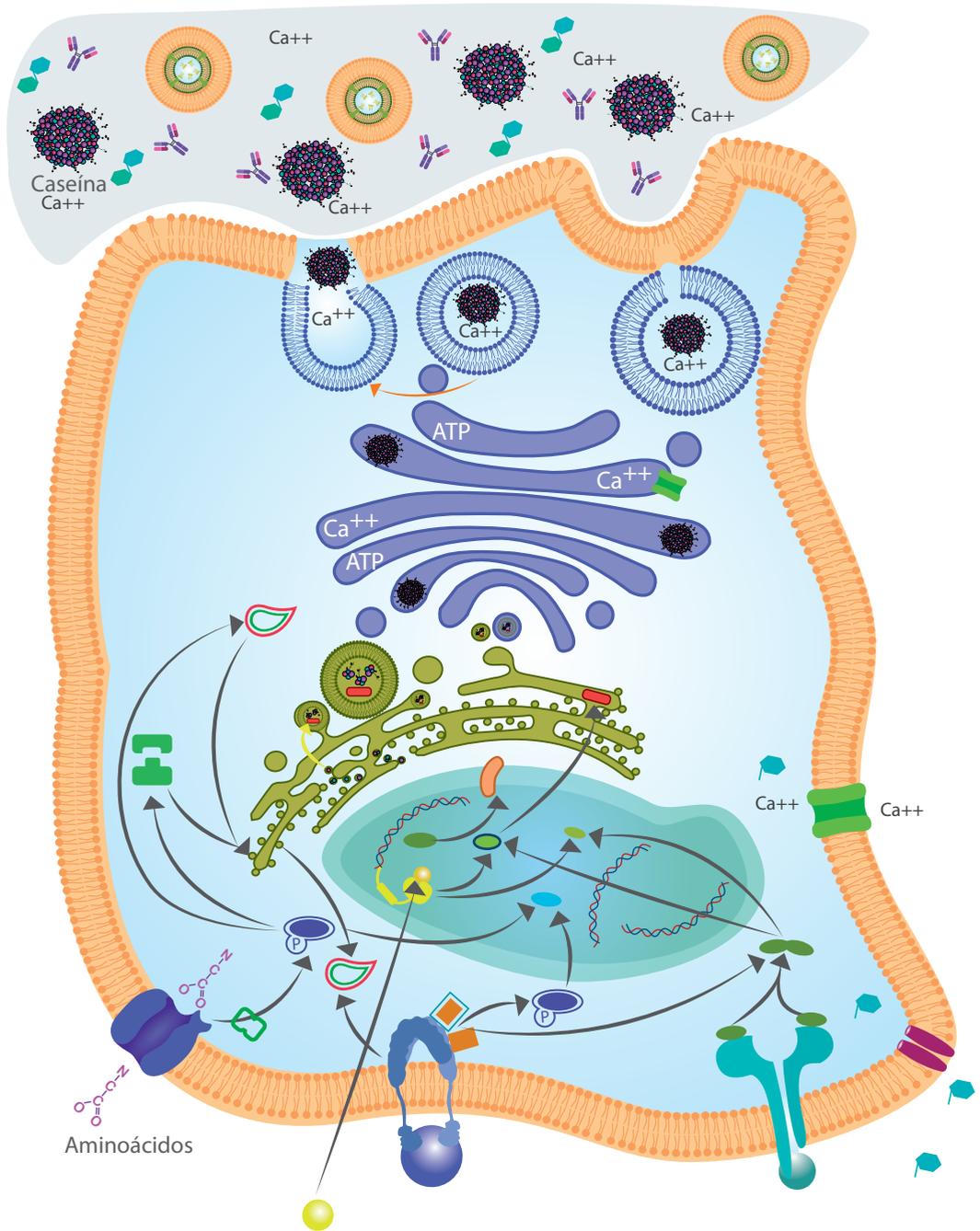
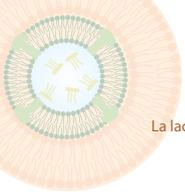


Figura 3. Vía de producción de las caseínas, desde el ingreso de los aminoácidos hasta la expulsión de la miscela de caseína

Fuente: F Huertas-Molina, M Olivera-Angel, K Vargas, 2019

Convenciones

	Aminoácido		PBK
	Aparato de Golgi		Prolactina
	ARN mensajero de CSN3 (K-Caseína)		Lactosa
	ARN mensajero de α -LALBA		Receptor Glut
	Cortisol		Receptor insulina
	CSN3		Receptor prolactina
	eIF4E		vp534
	4E-BP1		STAT 5
	Gen de α -LALBA		α_{s1} -Cn
	Gen GLUT		α_{s2} -Cn
	Glucosa		β -Cn
	Globulo graso		K-Cn
	Insulina		Submicela caseína
	Inmunoglobulina		Caseína
	Proteína ribosomal 56 Quinasa		Transportador de iones dependiente de ATP
	PDK		Receptor nuclear para estradiol y cortisol
	mTOR		



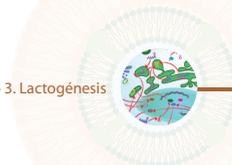
6.3 Los lípidos

Los lípidos secretados en la leche son sintetizados en el retículo endoplásmico liso (REL) a partir de ácidos grasos, glicerol y cuerpos cetónicos. Esto da lugar a la formación de triglicéridos (TAG) (98% de la grasa sintetizada) y fosfolípidos (2% de la grasa sintetizada), los cuales son liberados en forma de gotas citoplásmicas lipídicas que posteriormente se fusionan entre ellas dentro del citosol y salen al lumen alveolar como glóbulos grasos de la leche (Masedunskas, Chen, Stussman, Weigert & Mather, 2017).

Los ácidos grasos de cadena larga (LCFA), el acetato y los cuerpos cetónicos, principalmente β -hidroxibutirato (β HB), procedentes de la dieta y el metabolismo ruminal, son tomados de la circulación sanguínea e ingresan a la célula, los primeros por transporte activo y los demás por difusión simple (Bionaz, Osorio & Loor, 2015) (Figura 4).

La CEM obtiene ácidos grasos de tres fuentes: 1) los ácidos grasos de cadena corta y larga de los TAG provienen de lipoproteínas que circulan en la sangre y se obtienen de la dieta y el metabolismo ruminal; 2) los ácidos grasos no esterificados, transportados por la albúmina, provienen de la movilización de reservas corporales y 3) de la síntesis de novo en la CEM (Angulo, Mahecha & Olivera, 2009).

En los vasos sanguíneos se encuentran los receptores de lipoproteína de muy baja densidad (VLDLR) y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) que capturan el sustrato graso que conformarán los triglicéridos. Así llegan al fluido extracelular. Simultáneamente, la lipoproteína lipasa (LPL) actúa hidrolizando los TAG y se liberan al medio extracelular los LCFA (Bionaz & Loor, 2008; Osorio et al., 2016).



Una vez liberados en el medio extracelular, los LCFA son tomados y activados por acción coordinada entre el ácido graso translocasa (CD36) (Figura 4) y el acetil CoA sintetasa (ACSL-1). Los transportadores de ácidos grasos pueden ser SLC27A o la proteína de unión a los ácidos grasos 3 (FABP3) (Bionaz & Loor, 2008; Osorio et al., 2016). Los LCFA que entran a la célula (Figura 4) por transporte activo o por difusión pasiva (flip-flop) son activados por ACSL-1 por adición de un grupo CoA y unidos a FABP3, las cuales los transportan como ácidos grasos activados (AG-CoA) para procesos enzimáticos subsecuentes (Osorio et al., 2016).

La mayoría del acetato y parte del β HB circulante y provenientes de la fermentación en el rumen es usado como precursor de LCFA mediante la denominada *síntesis de novo* (Angulo et al., 2009). Esta tiene lugar en el citosol de la CEM y la llevan a cabo las enzimas Acil-CoA sintetasa (ACSS), Acetil-CoA sintasa de cadena media (ACSM), Acetil-CoA carboxilasa α (ACACA) y ácido graso sintasa (FASN). Los productos de la *síntesis de novo* (LCFA, MCFA y SCFA) son inmediatamente activados por un ACSL en la cara citoplásmica del REL (Bionaz & Loor, 2008; Osorio et al., 2016).

Parte de los LCFA activados son transportados por FABP3 hasta la cara citosólica del REL (Bionaz & Loor, 2008; Osorio et al., 2016), donde se unen con glicerol-6-fosfato. Este producto ingresa al lumen del REL y termina el ensamble del triacil glicerol (TAG) (Masedunskas et al., 2017) (Figura 3). La membrana del REL está constituida por ceramidas que vienen de los ácidos grasos inactivos provenientes de la *síntesis de novo* (Bionaz & Loor, 2011).

La adipofilina o perilipina (PLIN2) es la encargada de rodear los TAG en bicapa lipídica del REL para la formación de las gotas lipídicas citoplásmicas. Como resultado de la interacción entre la Xantina deshidrogenasa (XDH), el PLIN2 y la butirofilina (BTN1A1) se activa la exocitosis de la



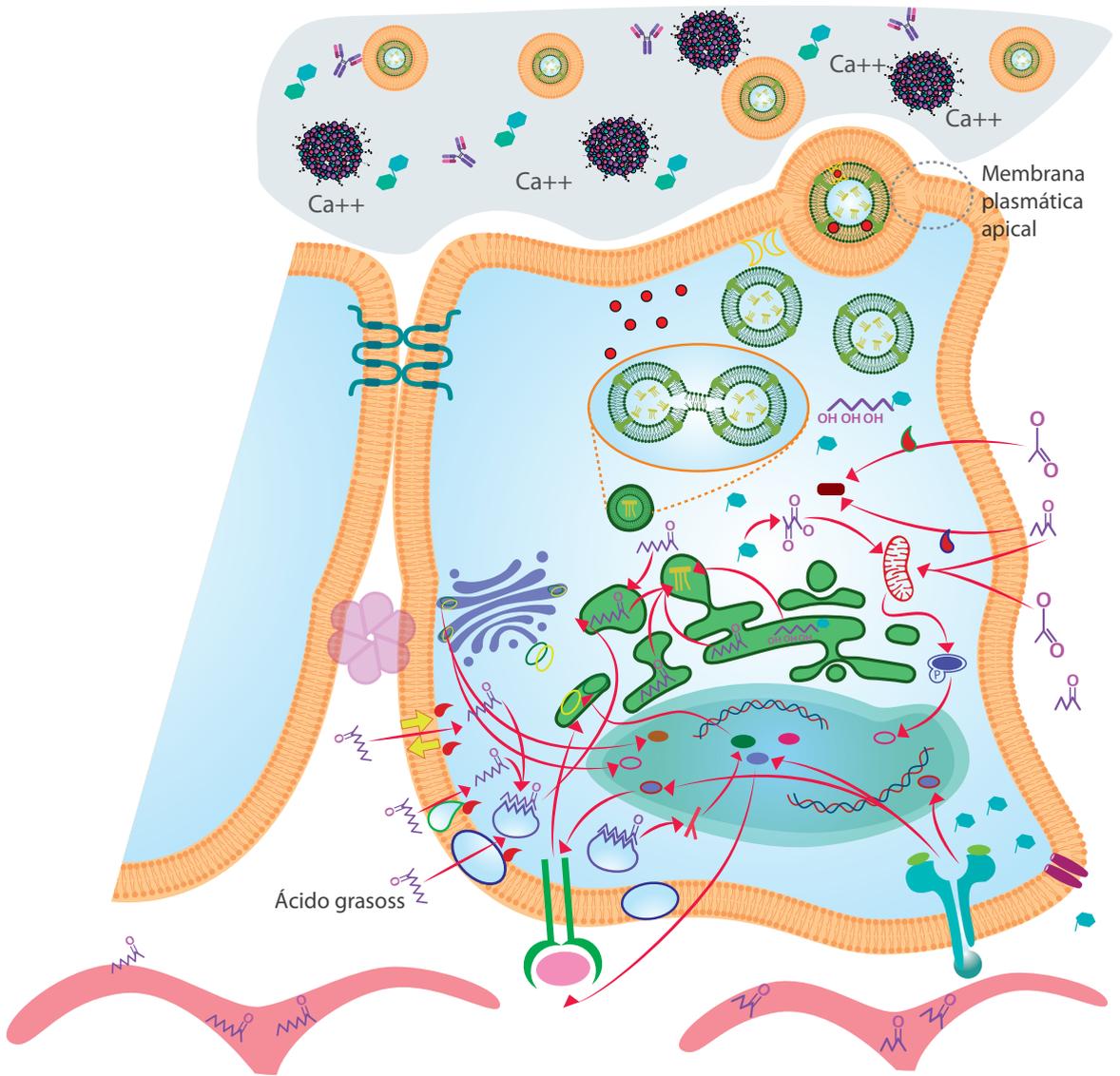
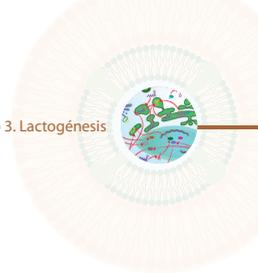


Figura 4. Vía de producción de lípidos: desde la absorción de los ácidos grasos hasta la secreción de las gotas lipídicas.

Fuente: F. Huertas-Molina, M. Olivera-Angel, K. Vargas, 2019

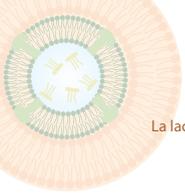


Convenciones

ACSL1	Gen receptor de leptina	XDH
ACSM	Gen de leptina	Pre separación Prolactina
ACSS	Gen de SREBP-1	PPARG
Acetato	Gen PPARG	Receptor Glut
Adipofilina	Glicerol	Receptor leptina
Aparato de Golgi	Globulo graso	Receptor prolactina
β Hidroxibutirato	Inmunoglobulina	Región RXR
Butirofilina	Lactosa	SRE
Caseína	Leptina	SREBP-1
CD36	Mitocondria	SCAP
Cortisol	Macrogota lipídica	STAT 5
Estradiol	mTOR	TAG
FABP3	PBK	Unión GAP
FABP3	PDK	Uniones estrechas
FASN	Piruvato	
Ácido graso de cadena larga (LCEA)	Flip - Flop	

gota hacia el lumen del alvéolo. Finalmente, la gota lipídica es rodeada por la MPA de la CEM que contiene además factores citosólicos (Bionaz & Loor, 2008; McManaman, 2014; Osorio et al., 2016; Truchet & Honvo-Houéto, 2017).





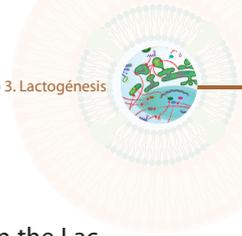
La expresión de los genes involucrados en el transporte de ácidos grasos (elemento de reacción al esteroles (*SRE*) y la región *RxR*) en la *síntesis de novo* (*SRE* y *región RxR*), en síntesis de triglicéridos (*región RxR*) y en la secreción de la gota lipídica (*región RxR*) está regulada por la influencia de la glucosa, la prolactina y la leptina y sus respectivos receptores, así como por ácidos grasos de cadena larga (Bionaz & Loor, 2008; Kadegowda, Bionaz, Piperova, Erdman & Loor, 2009; Osorio et al., 2016).

Por otro lado, la proteína de unión al elemento de reacción al esteroles-1 (*SREBP-1*) yace en su forma inactiva en la membrana externa del REL hasta que la activación del gen *SREBF-1* permite el clivaje de la proteína a través de la proteína de activación y clivaje (*SCAP*). Posteriormente, es transportada en *VS* hasta el aparato de Golgi, donde se activa e induce la función del *SRE* y la *región RXR* (Angulo et al., 2009; Li et al., 2014).

La actividad de *SREBP1* también está bajo el control de *mTOR*: la regula indirectamente impidiendo la entrada nuclear de *Lipina 1*, la cual bloquea su actividad mediante mecanismos no descritos. Los transportadores de glucosa (*GLUT 1*) están directamente relacionados con la fosforilación de *mTOR* a partir de la producción mitocondrial de *ATP*, una vez está disponible la glucosa en el espacio extracelular basal (Peterson et al., 2011).

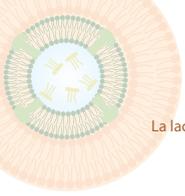
Bibliografía

- Anderson, S. M., Rudolph, M. C., McManaman, J. L., & Neville, M. C. (2007). Key stages in mammary gland development. Secretory activation in the mammary gland: It's not just about milk protein synthesis! *Breast Cancer Research*, 9(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/bcr1653>
- Angulo, J., Mahecha, L., & Olivera, M. (2009). Síntesis, composición y modificación de la grasa de la leche bovina: Un nutriente valioso para la salud humana. *Revista MVZ Cordoba*, 14(3), 1856–1866.

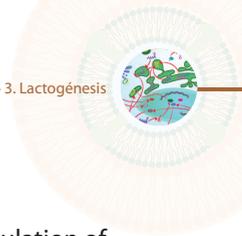


- Bionaz, M., Hurley, W., & Loor, J. (2012). Milk Proetin. Milk Protein Synthesis in the Lactating Mammary Gland : *Insights from Transcriptomics Analyses* (InTech). <http://dx.doi.org/10.5772/46054>
- Bionaz, M., & Loor, J. (2008). Gene networks driving bovine milk fat synthesis during the lactation cycle. *BMC Genomics*, 9, 1–21. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-366>
- Bionaz, M., & Loor, J. (2011). Gene networks driving bovine mammary protein synthesis during the lactation cycle. *Bioinformatics and Biology Insights*, 5, 83–98. <https://doi.org/10.4137/BBI.S7003>
- Bionaz, M., Osorio, J., & Loor, J. (2015). Nutrigenomics in dairy cows: Nutrients , transcription factors , and techniques *American Society of Animal Science*, 93(12), 5531–5553. <https://doi.org/10.2527/jas2015-9192>
- Boisgard, R., Chanut, E., Lavialle, F., Pauloin, A., & Ollivier-Bousquet, M. (2001). Roads taken by milk proteins in mammary epithelial cells. *Livestock Production Science*, 70(1), 49–61. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00197-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00197-X)
- Capuco, A. V., & Ellis, S. E. (2013). Comparative aspects of mammary gland development and homeostasis. *Annual Review of Animal Biosciences*, 1(1), 179–202. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-031412-103632>
- Choi, H. J., Chung, T. W., Kim, C. H., Jeong, H. S., Joo, M., Youn, B. H., & Ha, K. T. (2012). Estrogen induced β -1,4-galactosyltransferase 1 expression regulates proliferation of human breast cancer MCF-7 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 426(4), 620–625. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.08.140>
- Curtis, R. V., Kim, J. J. M., Bajramaj, D. L., Doelman, J., Osborne, V. R., & Cant, J. P. (2013). Decline in mammary translational capacity during intravenous glucose infusion into lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 430–438. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7252>
- Dahanayaka, S. A. (2016). Isolation and characterization of porcine mammary epithelial cells from non-lactating and non-pregnant gilt. *Journal of Animal Science*, 93(11), 5186–5193. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9250>
- Groner, B. (2002). Transcription factor regulation in mammary epithelial cells. *Domestic Animal Endocrinology*, 23(1–2), 25–32. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(02\)00142-X](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(02)00142-X)
- Haenlein, G. F. W., & Wendorff, W. L. (2006). Sheep Milk. In Blackwell (Ed.), *Handbook of milk of Non-bovine mammals* (2nd ed., pp. 137–194).



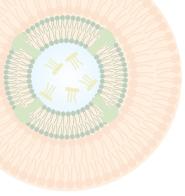


- Hurley, W. . L. (2013). Proceedings of the london swine conference. In *Lactation in motion* (pp. 25–28). London.
- Kadegowda, A. K. G., Bionaz, M., Piperova, L. S., Erdman, R. A., & Looor, J. J. (2009). Peroxisome proliferator-activated receptor- γ activation and long-chain fatty acids alter lipogenic gene networks in bovine mammary epithelial cells to various extents. *Journal of Dairy Science*, *92*(9), 4276–4289. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1932>
- Kim, S. W., & Wu, G. (2009). Regulatory role for amino acids in mammary gland growth and milk synthesis. *Amino Acids*, *37*(1), 89–95. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0151-5>
- Lei, J. (2012). Nutritional and regulatory role of branched-chain amino acids in lactation. *Frontiers in Bioscience*, *17*(7), 2725. <https://doi.org/10.2741/4082>
- Li, N., Zhao, F., Wei, C., Liang, M., Zhang, N., Wang, C., ... Gao, X. J. (2014). Function of SREBP1 in the milk fat synthesis of dairy cow mammary epithelial cells. *International Journal of Molecular Sciences*, *15*(9), 16998–17013. <https://doi.org/10.3390/ijms150916998>
- Liu, H., Zhao, K., & Liu, J. (2013). Effects of glucose availability on expression of the key genes involved in synthesis of milk fat, lactose and glucose metabolism in bovine mammary epithelial cells. *PLoS ONE*, *8*(6), 6–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066092>
- Macias, H., & Hinck, L. (2013). Mammary gland development. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, *1*(4), 533–557. <https://doi.org/10.1002/wdev.35>.
- Masedunskas, A., Chen, Y., Stussman, R., Weigert, R., & Mather, I. H. (2017). Kinetics of milk lipid droplet transport, growth, and secretion revealed by intravital imaging: lipid droplet release is intermittently stimulated by oxytocin. *Molecular Biology of the Cell*, *28*(7), 935–946. <https://doi.org/10.1091/mbc.e16-11-0776>
- McManaman, J. L. (2014). Lipid transport in the lactating mammary gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, *19*(1), 35–42. <https://doi.org/10.1007/s10911-014-9318-8>
- McManaman, J. L., & Neville, M. C. (2003). Mammary physiology and milk secretion. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *55*(5), 629–641. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(03\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(03)00033-4)
- Neville, M. C., & Morton, J. (2001). Physiology and endocrine changes underlying human lactogenesis II. *Pediatric Clinics of North America*, *48*, 35–52. DOI: 10.1093/jn/131.11.30055



- Neville, M. C., Neville, M. C., Mcfadden, T. B., & Forsyth, I. (2002). Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 7(1), 49–66. <https://doi.org/10.1023/A>
- Nguyen, D. A., Parlow, A. F., & Neville, M. C. (2001). Hormonal regulation of tight junction closure in the mouse mammary epithelium during the transition from pregnancy to lactation. *Journal of Endocrinology*, 170(2), 347–356. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1700347>
- Nickerson, S. C., & Akers, R. M. (1984). Biochemical and ultrastructural aspects of milk synthesis and secretion. *Int. J. Biochem*, 16(8), 855–865.
- Osorio, J. S., Lohakare, J., & Bionaz, M. (2016). Biosynthesis of milk fat, protein, and lactose: roles of transcriptional and posttranscriptional regulation. *Physiological Genomics*, 48(4), 231–256. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00016.2015>
- Ostrowska, M., Jarczak, J., & Zwierzchowski, L. (2015). Glucose transporters in cattle - A review. *Animal Science Papers and Reports*, 33(3), 191–212.
- Peterson, T. R., Sengupta, S. S., Harris, T. E., Carmack, A. E., Kang, S. A., Balderas, E., ... Sabatini, D. M. (2011). mTOR complex 1 regulates lipin 1 localization to control the SREBP pathway. *Cell*, 146(3), 408–420. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.06.034>
- Preusting, I., Brumley, J., Odibo, L., Spatz, D. L., & Louis, J. M. (2017). Obesity as a predictor of delayed lactogenesis ii. *Journal of Human Lactation*, 33(4), 684–691. <https://doi.org/10.1177/0890334417727716>
- Rezaei, R., Wu, Z., Hou, Y., Bazer, F. W., & Wu, G. (2016). Amino acids and mammary gland development: Nutritional implications for milk production and neonatal growth. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0078-8>
- Rius, A. G., Appuhamy, J. A. D. R. N., Cyriac, J., Kirovski, D., Becvar, O., Escobar, J., ... Hani-gan, M. D. (2010). Regulation of protein synthesis in mammary glands of lactating dairy cows by starch and amino acids. *Journal of Dairy Science*, 93(7), 3114–3127. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2743>
- Rulquin, H., & Pisulewski, P. M. (2006). Effects of graded levels of duodenal infusions of leucine on mammary uptake and output in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 73(3), 328–339. <https://doi.org/10.1017/s0022029906001841>
- Salama, A. (2005). Modifying the lactation curve in dairy goats: effects of milking frequency, dry period and kidding interval. UAB (Ed.).





- Salama, A. A. K., Duque, M., Wang, L., Shahzad, K., Olivera, M., & Loor, J. J. (2019). Enhanced supply of methionine or arginine alters mechanistic target of rapamycin signaling proteins, messenger RNA, and microRNA abundance in heat-stressed bovine mammary epithelial cells in vitro. *Journal of Dairy Science*, *102*(3), 2469–2480. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15219>
- Sarbassov, D. D., Ali, S. M., & Sabatini, D. M. (2005). Growing roles for the mTOR pathway. *Current Opinion in Cell Biology*, *17*(6), 596–603. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2005.09.009>
- Toerien, C. A., Trout, D. R., & Cant, J. P. (2009). Nutritional stimulation of milk protein yield of cows is associated with changes in phosphorylation of mammary eukaryotic initiation factor 2 and ribosomal s6 kinase 1. *The Journal of Nutrition*, *140*(2), 285–292. <https://doi.org/10.3945/jn.109.114033>
- Truchet, S., & Honvo-Houéto, E. (2017). Physiology of milk secretion. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, *31*(4), 367–384. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2017.10.008>
- Truchet, S., & Ollivier-Bousquet, M. (2009). Mammary gland secretion: hormonal coordination of endocytosis and exocytosis. *Animal*, *3*(12), 1733–1742. <https://doi.org/10.1017/s1751731109990589>
- Wall, E., & Mcfadden, T. (2012). Regulation of mammary development as it relates to changes in milk production efficiency. In Narongsak Chaiyabutr (Ed.), *Milk Production - An Up-to-Date Overview of Animal Nutrition, Management and Health* (pp. 257–288). InTech.
- Xu, J., Ji, J., & Yan, X. H. (2012). Cross-Talk between AMPK and mTOR in Regulating Energy Balance. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *52*(5), 373–381. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.500245>
- Zhao, F.-Q., & Keating, A. F. (2010). Expression and regulation of glucose transporters in the bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*, *90*(July 2006), E76–E86. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-470>