



# Capítulo 5

## Involución

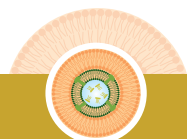
O. Díaz<sup>1</sup>, MVZ, MSc.

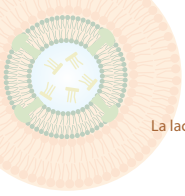
### 1. Introducción

La involución de la glándula mamaria es un proceso en el que esta cambia su composición y función: pasa de ser un órgano compuesto principalmente por epitelio secretor a un órgano no secretor. El epitelio secretor es voluminoso y está compuesto en un 90% de células epiteliales mamarias (CEM), mientras que el no secretor es principalmente tejido adiposo. La involución es una muerte extensa de las CEM, acompañada por una regulación positiva de la matriz de metaloproteasas (MMPS) que ayudan a regenerar el estroma celular. En este proceso, adipocitos llenan los espacios que dejan las CEM, aumenta la calicreína que regula la diferenciación e ingresan macrófagos (Watson & Kreuzaler, 2011).

---

1. Grupo de Investigación Biogénesis, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Grupo Solla S.A, Medellín, Colombia.





## 2. Involución reversible e irreversible

El iniciador de la involución mamaria es la estasis láctea, que conduce a la acumulación de leche con turgencia de los alvéolos. La presión extracelular aumenta los niveles de serotonina (5-HT) (Figura 1A) en los capilares mamarios; esas concentraciones altas y constantes provocan el rompimiento de las uniones estrechas entre las CEM, facilitando su desprendimiento hacia el lumen alveolar. Cuando inicia la involución comienza la expresión del factor inhibitorio de leucemia (LIF), un activador de la vía de transductores y activadores de las señales de transcripción tipo 3 (STAT3) que induce la apoptosis epitelial (Jena, Jaswal, Kumar & Mohanty, 2018).

Cuando se inicia la involución mamaria (Figura 1) ocurren una serie de eventos locales simultáneos: aumento de la presión intra-alveolar, apoptosis de las CEM por desprendimiento (anoikis), infiltración de neutrófilos, producción de citoquinas, fagocitosis de los detritos celulares por las células epiteliales viables y disminución de la síntesis láctea (Pai & Horseman, 2011; Watson & Kreuzaler, 2011).

El nivel de prolactina (PRL) en sangre mantiene alto el nivel de del tejido inhibidor de las metaloproteinasas (TIMP), el cual es un factor inhibidor de metaloproteinasas (MMP) (Figura 1A). Estas, a su vez, desintegran la matriz extracelular, encargada de mantener compacta la estructura de las CEM. La concentración alta y constante de 5-HT ocasiona la ruptura de las uniones estrechas entre las CEM; induce la migración de neutrófilos hacia el lumen, así como la producción de interleuquina 6 (IL-6), e inhibe poco a poco la sensibilidad de las CEM a la prolactina, por lo que se disminuye la concentración de lactosa, con la consecuente disminución en el transporte de agua por ósmosis (Figura 1B). La interleuquina IL-6 suprime las señales mediadas por STAT5 (Pai y Horseman, 2011) por lo



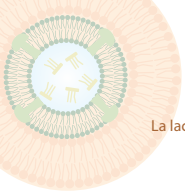
que las células pueden entrar en apoptosis. Por otra parte, se aumenta la concentración de proteínas, especialmente lactoferrina que, además de suprimir la expresión de la caseína, tiene acción bacteriostática (Pai & Horseman, 2011; Sanchez, Calvo & Brock, 1992).

En los primeros tres días de involución, las CEM fagocitan células apoptóticas (Figura 1A), micelas de caseína y glóbulos de grasa láctea con sus vacuolas citoplásmicas (Atabai et al., 2005). El engolfamiento de estos materiales está mediado por el receptor de fosfatidil serina y el factor 8 EGF de los glóbulos de grasa láctea (Mfge8 – lactadherina en humanos) (Hanayama & Nagata, 2005).

Durante las 24 horas de la estasis láctea la involución puede ser reversible siempre que la leche se extraiga y aún estén altos los niveles de prolactina, glucocorticoides y el factor de crecimiento insulinoide I (IGF-I). En este punto hay un fino balance entre los factores de sobrevivencia o anti-apoptóticos (prolactina, glucocorticoides e IGF-I) y los factores de muerte celular que regulan la regresión epitelial como el 5-HT, las interleuquinas (Ils) y el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF $\beta$ ). El IGF-I pierde disponibilidad por la expresión del regulador de la involución, que es la proteína de unión del factor de crecimiento insulinoide 5 (IGFBP-5) que se une a la IGF-I y la inhibe.

Las CEM se encuentran bajo dos señales, la una para sobrevivir y hacer mitosis y la otra para morir a través de la apoptosis. La proteína kinasa, conocida también como Akt, sirve como centinela en la regulación de las señales de sobrevivencia, mientras que STAT3 y la familia de proteínas de las células B (Bcl2) son el mayor regulador de muerte intracelular (Baxter, Neoh & Tevendale, 2007). La apoptosis ocurre de manera heterogénea por permeabilización de la membrana de las CEM, pero no todo el tejido epitelial sufre apoptosis.





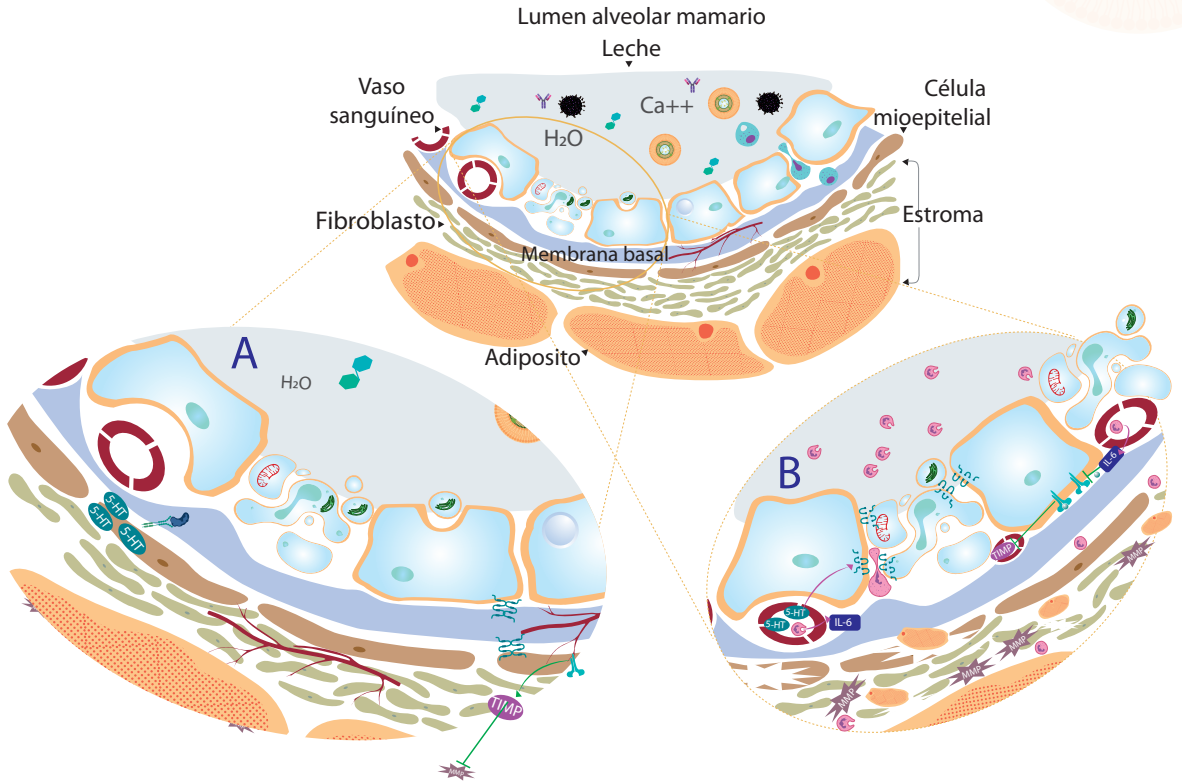
La segunda parte de la involución, que no es reversible, inicia con la fagocitosis profesional de los macrófagos tres días después del inicio del proceso. Comienza con una respuesta primaria de neutrófilos, luego la activación secundaria de macrófagos con respuesta de fase aguda local y, por último, la respuesta de linfocitos B (Pai & Horseman, 2011). Durante la segunda parte de la involución el tejido adiposo blanco sufre un crecimiento exponencial, ya que a medida que ocurre la apoptosis de las CEM este tejido va repoblando el estroma (Watson & Kreuzaler, 2011).

Al inicio de la involución se aumenta la expresión de citoquinas pro-inflamatorias y sus receptores (por ejemplo: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-13) (Stein et al., 2004). La producción de inmunoglobulinas (Ig) es inducida a los tres días del inicio de la involución; varias de las Ig (IgA, IgM e IgG) son sintetizadas localmente por las células plasmáticas (Pai & Horseman, 2011).

## 2.1 Remodelación de la matriz extracelular

La fase irreversible de la involución se caracteriza por la remodelación de la matriz extracelular e inicia con la fractura y remoción de la membrana basal (Figura 1B), la cual sirve como ancla a las células epiteliales y mioepiteliales (Watson & Kreuzaler, 2011).

Con el desprendimiento masivo de CEM, el lumen del alvéolo se llena de detritos celulares y las CEM aún viables fagocitan las CEM apoptóticas. El aumento de citoquinas (IL-6) (Kass, Erler, Dembo, & Weaver, 2007). disminuye la sensibilidad de las MEC a la prolactina (PRL), lo que provoca disminución del tejido inhibidor de metaloproteinasas (TIMP). Las IL-6 están encargadas de degradar la matriz extracelular y, al no ser inhibidas por TIMP, degradan los componentes de la matriz extracelular como la fibronectina, la elastina y el colágeno.

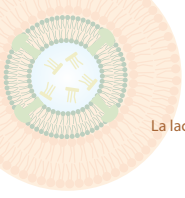


**Figura 1.** Involución de la glándula mamaria. **Figura 1A.** Involución de la glándula mamaria en los primeros tres días. **Figura 1B.** Involución de la glándula mamaria después del tercer día

Fuente: M Olivera-Angel 2019

**Convenciones**

5-HT	Caseína	Globulo graso
Inmunoglobulina	IL-6	Lactosa
Macrófago	TIMP	MMP
Receptor prolactina	VEGF-VEGFR	Uniones estrechas



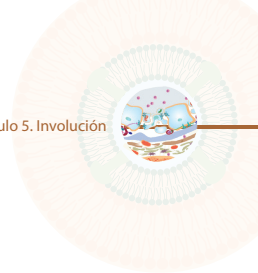
En la lactancia, los fibroblastos del estroma y los adipocitos de la glándula inducen a que las células mioepiteliales sintetizen y secreten componentes de la membrana basal que incluyen laminina, colágeno, fibronectina e integrinas acopladas ( $\alpha 5$ ,  $\alpha 6$ ,  $\beta 1$  y  $\beta 4$ ) a la superficie de las células epiteliales basales. La matriz extracelular en la mitad de la involución induce la muerte de las CEM, mientras que hacia el final de la involución favorece la formación de estructuras tipo ductos alargados con bifurcaciones (Kass, Erler, Dembo & Weaver, 2007).

Se han asociado dos sistemas con la remodelación de la matriz extracelular mamaria:

- 1) El sistema del plasminógeno (Plg), que incluye los activadores de urokinasa Plg (uPA), de tejido activador de Plg (tPA) y de la kalikreina de plasma (Pkal) y también los inhibidores del activador de Plg (PAIs) y anti-plasmina- $\alpha 2$  de Plg.
- 2) El sistema de enzimas proteolíticas MMP, el cual incluye varias MMP y sus inhibidores, las TIMP (Figura 1B) (Green & Lund, 2005).

Las MMP juegan varios papeles: inician la remodelación de la matriz extracelular, inducen el llenado de estos espacios con adipositos, inducen la apoptosis de la CEM y además el ingreso de macrófagos (Figura 1B) (Green & Lund, 2005; Schedin, Mitrenga, McDaniel & Kaeck, 2004).

Durante la primera fase de involución, la presencia de altos niveles de hormonas sistémicas tipo PRL y GH mantienen alto el nivel de TIMP y suprimen la expresión de MMP. Esto previene la generación de plasmina y el quiebre tanto de la matriz extracelular como de la membrana basal. En la transición a la segunda fase de la involución, la influencia endocrina disminuye, lo cual resulta en la disminución del inhibidor de las proteasas e inducción de uPA y MMP y genera el quiebre de la matriz extracelular y la membrana basal (Travers et al., 1996).



## Diferenciación de adipocitos

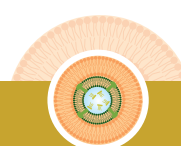
La formación del tejido adiposo en la glándula mamaria durante la involución puede depender de cuatro aspectos: a) regulación hormonal, b) cambios transcripcionales y metabólicos, c) remodelación de matriz extracelular de adipocitos y d) vascularización del tejido adiposo.

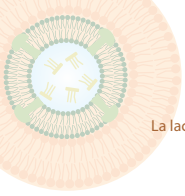
### a) Regulación hormonal:

La regulación hormonal está mediada principalmente por la PRL, cuya función sobre el tejido graso está encaminada a la diferenciación de pre-adipocitos. La supresión de PRL provoca la adipogénesis y aumenta los niveles de leptina, mientras que su suplementación previene la adipogénesis e inhibe la leptina. La leptina es la hormona que provoca la diferenciación de los pre-adipocitos a los adipocitos. A los 10 días de involución, la leptina está en el pico más alto, lo que indica su papel en la adipogénesis (Pai & Horseman, 2011). Pai & Horseman (2011) describen la 5-HT como el factor autocrino-paracrino que facilita la transición de la glándula mamaria desde la lactancia a la involución. La diferenciación de pre-adipocitos depende del cambio de receptores de 5-HT y pueden ser estimuladores (5-HT<sub>2A</sub>) o inhibidores (5-HT<sub>1</sub>).

### b) Cambios transcripcionales y metabólicos:

La disminución en los niveles sistémicos de GH y PRL resulta en cambios morfológicos en los pre-adipocitos y en la regulación de los factores de transcripción como el receptor  $\gamma$ -proliferador-activador de peroxisoma (Tizard, 2013) y la proteína  $\beta$ -CCAAT-potenciador de unión (C/EBP- $\beta$ ) (Selvarajan, Lund, Takeuchi, Craik & Werb, 2001). Hay un rápido cambio en la actividad de enzimas como Acyl-CoA aciltransferasa colesterol (ACAT) y Acyl-CoA carboxylasa (ACC); esto representa una reducción coordinada de síntesis de lípidos en el tejido





glandular con lipogénesis elevada y almacenamiento de triglicéridos, diferenciando los pre-adipocitos a los adipocitos (Chavey et al., 2003).

**c) Remodelación de la matriz extracelular de adipocitos**

Mientras que las MMP inhiben el proceso de diferenciación de los adipocitos, las TIMPs estimulan directamente su diferenciación a partir de los pre-adipocitos (Alexander, Selvarajan, Mudgett & Werb, 2001). Además, estimulan la adipogénesis por vía de inducción de los factores de transcripción PPAR $\gamma$  y C/EBP- $\beta$  (Chavey et al., 2003). La remodelación de la matriz extracelular de los adipocitos favorece su expansión y la formación de la almohadilla grasa (Chavey et al., 2003).

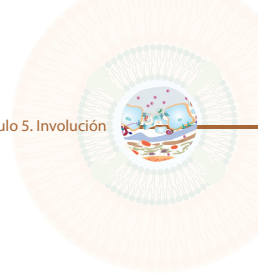
**d) Vascularización del tejido adiposo:**

La remodelación vascular sirve para suplir nutrientes, principalmente lípidos, requeridos en la adipogénesis. Consiste en dos grandes eventos: regresión vascular y angiogénesis. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es el regulador más estudiado de la vasculatura mamaria. La fagocitosis del tejido epitelial mamario durante la transición al periodo seco resulta en una potente secreción de VEGF (Pepper et al., 2000).

### 3. Remodelación vascular

Durante la lactancia, la vasculatura está compuesta de una red de capilares altamente desarrollada en forma de panel, tipo cesta, que envuelve cada alvéolo secretorio. Al día tres de involución, la estructura alrededor del alvéolo exhibe un patrón irregular y colapsado, lo cual sugiere una regulación local de la red vascular. Por el día seis de la involución, la cesta vascular, similar al alvéolo, no está presente y es reemplazada por un racimo de capilares en varios estados de regresión. Por el día 10 de involución la red vascular en la glándula mamaria es similar a la glándula





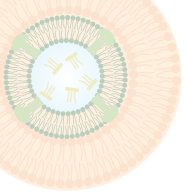
virgen (Djonov, Andres & Ziemiecki, 2001).

Dentro de los reguladores de la remodelación vascular en la involución está el VEGF, secretado por los adipocitos durante la fagocitosis (Pepper et al., 2000). (Figura 1B). La involución de la glándula mamaria también se caracteriza por disminución en la secreción de VEGF epitelial, acompañada por disminución en el receptor de VEGF (VEGFR) en las células del estroma adyacente. Otros reguladores de la remodelación vascular son la PRL clivada y el 5-HT. La PRL tiene una potente señal angiogénica, pero de manera clivada (16K) es altamente anti-angiogénica. La 5-HT es vasoactiva y mitogénica en las células del músculo liso vascular y endotelial. La acción mitogénica de 5-HT puede ser mediada por la secreción de VEGF vía activación sostenida de p38MAPK (Pai & Horseman, 2011).

## Bibliografía

- Alexander, C. M., Selvarajan, S., Mudgett, J., y Werb, Z. (2001). Stromelysin-1 Regulates adipogenesis during mammary gland involution. *The Journal of Cell Biology*, 152 152(4), 693-670.
- Atabai, K., Fernandez, R., Huang, X., Ueki, I., Kline, A., Li, S.,... Sheppard, D. (2005). Mfge8 is critical for mammary gland remodeling during involution. *Molecular Biology of the Cell*, 16, 5528-5537.
- Baxter, F. O., Neoh, K., y Tevendale, M. C. (2007). The beginning of the end: death signaling in early involution. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 12, 3-13.
- Chavey, C., Mari, B., Monthouel, M. N., Bonnafous, S., Anglard, P., Obberghen, E. V., y Tartare-Deckert, S. (2003). Matrix metalloproteinases are differentially expressed in adipose tissue during obesity and modulate adipocyte differentiation. *The Journal of Biological chemistry*, 278 (14), 11888-11896.
- Djonov, V., Andres, A. C., y Ziemiecki, A. (2001). Vascular remodelling during the normal and malignant life cycle of the mammary gland. *Microscopy Research and Technique*, 52, 182-189.





- Green, K. A., y Lund, L. R. (2005). ECM degrading proteases and tissue remodelling in the mammary gland. *BioEssays*, 27, 894-903.
- Hanayama, R., y Nagata, S. (2005). Impaired involution of mammary glands in the absence of milk fat globule EGF factor 8. *PNAS*, 102 (46),16886-16891.
- Jena, M. K., Jaswal, S., Kumar, S., y Mohanty, A. K. (2018). Molecular Mechanism of Mammary Gland Involution: An Update. *Developmental Biology*, 445 (2), 145-155 doi. org/10.1016/j.ydbio.2018.11.002.
- Kass, L., Elerb, J. T., Demboc, M., y Weaver, V. M. (2007). Mammary epithelial cell: Influence of extracellular matrix composition and organization during development and tumorigenesis. *Int J Biochem Cell Biol*, 39 (11), 1987–1994.
- Pai, V. P., y Horseman, N. D. (2011). *Mammary gland involution: events, regulation and influences on breast disease*. In: Endothelium and Epithelium, Ed. J. Carrasco and Mota, ISBN: 978-1-61470-874-2. pp. 247-284.
- Pepper, M. S., Baetens, D., Mandriota, S. J., Sanza, C. D., Oikemus, S., Lane, T. F., Iruela-Arispe, M. L. (2000). Regulation of VEGF and VEGF receptor expression in the rodent mammary gland during pregnancy, lactation, and involution. *Developmental Dynamics*, 218, 507-524.
- Sánchez, L., Calvo, M., y Brock, J. H. (1992). Biological role of lactoferrin. *Archives of disease in Childhood*, 67, 657-661.
- Schedin, P., Mitrenga, T., McDaniel, S., y Kaeck, M. (2004). Mammary ECM composition and function are altered by reproductive state. *Molecular Carcinogenesis*, 41, 207-220.
- Selvarajan, S., Lund, L.R., Takeuchi, T., Craik, C. S., y Werb, Z. (2001). A plasma kallikrein-dependent plasminogen cascade required for adipocyte differentiation. *Nat Cell Biol*, 3 (3), 267-275.
- Stein, T., Morris, J. S., Davies, C. R., Weber-Hall, S. J., Duffy, M. A., Heath, V. J.,... Gusterson, B. A. (2004). Involution of the mouse mammary gland is associated with an immune cascade and an acute-phase response, involving LBP, CD14 and STAT3. *Breast Cancer Research*, 6 (2), R75-R91.
- Travers, M. T., Barber, M. C., Tonner, E., Quarrie, L., Wilde, C. J., y Flint, D. J. (1996). The role of prolactin and growth hormone in the regulation of casein gene expression and mammary cell survival: relationships to milk synthesis and secretion. *Endocrinology*, 137 (5), 1530-1539.
- Watson, C. J., y Kreuzaler, P. A. (2011). Remodeling mechanisms of the mammary gland during involution. *Int. J. Dev. Biol.* 55, 757-762.