



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

7
2EJ

Colegio de Ciencias y Humanidades
Unidad Académica de los Ciclos Profesionales
y de Posgrado
Centro de Neurobiología

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS

EFFECTO DE ALGUNAS HORMONAS DEL
COMPLEJO GALACTOPOYÉTICO EN LA
ACTIVIDAD 5'-DESYODASA MAMARIA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

**LICENCIADO EN INVESTIGACION
BIOMÉDICA BÁSICA**

P R E S E N T A :

Oscar Leopoldo Pineda Catalán

TUTOR : DRA. CARMEN Y. ACEVES VELASCO

FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

FEBRERO DE 1995



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Esta tesis está dedicada a las tres personas mas importantes en mi vida

***MI Padre,
MI Madre y
Olga***

Con un profundo amor y respeto.

Gracias

Agradezco a los doctores Carmen Aceves Velasco y Carlos Valverde Rodríguez por su enorme paciencia y dedicación que tuvieron para enseñarme a trabajar en este mundo que es la fisiología.

A esas dos grandes personas que tengo por suerte como amigos: a Tana y al Doc, por brindarme siempre su cariño y apoyo, y a quienes debo en gran medida mi formación profesional.

A la Dra. Edda Scitutto Conde, por sus enseñanzas y consejos, y sobre todo por su amistad.

A toda mi familia, por apoyarme siempre en todo, gracias por su confianza.

A todos mis compañeros de los laboratorios donde he trabajado, muchas gracias por su valiosa ayuda.

A los "Microchips", porque fue una suerte inmensa disfrutar la carrera con ustedes y tenerlos como compañeros y amigos.

A todos mis maestros, en los que siempre encuentre un consejo o una opinión que me ayudara a seguir adelante. En especial a Tofo Lazcano, porque mas que un maestro es un amigo dispuesto a enseñar.

Agradezco al jurado que dedicó parte de su tiempo a la revisión de este trabajo. A los doctores: Carmen Aceves, Carlos Valverde, Flavio Mena, Adolfo García Sainz y a la Maestra Lucia Quevedo.

Este trabajo fue realizado bajo la dirección de la Dra. Carmen Aceves Velasco, y fue apoyado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM, mediante una beca para su autor.

INDICE

Indice	i
Abreviaturas	v
Resumen de Tesis:	
Efecto de Algunas Hormonas del Complejo Galactopoyético en la Actividad 5'- Desyodasa Mamaria.	1
Aspectos Anatómicos y Funcionales de la Glándula Tiroides	4
Anatomía de la Glándula Tiroides	4
Histología de la Glándula Tiroides	6
Ontogenia de la Glándula Tiroides	7
* Folliculogénesis	8
* Hormonogénesis	9
Síntesis de Hormonas Tiroideas	10
* Captura y organificación del yodo	10
* Hormonogénesis y secreción	15
Proteínas Transportadoras de Hormonas Tiroideas	17
Efectos y Mecanismos de Acción de las Hormonas Tiroideas	20
* Mecanismos genómicos	21
* Mecanismos mitocondriales	22
* Receptores nucleares	22
Regulación de la Función de la Glándula Tiroides	27
Metabolismo de Hormonas Tiroideas	31
* Conjugación	32
* Desaminación oxidativa	32
* Ruptura del enlace éter	32
Desyodación	32
* 5'- desyodasa tipo I	34
* 5'- desyodasa tipo II	35
* 5'- desyodasa tipo III	36

Significado Funcional de la Desyodación	37
Glándula Mamaria	39
Estructura de la Glándula Mamaria	40
Desarrollo del Tejido Mamario	43
* Embriogénesis y periodo neonatal	43
* Periodo puberal	43
* Diferenciación celular y funcional del tejido alveolar	44
* Mamogénesis	44
* Lactogénesis	44
* Lactación	45
* Galactotrofia	46
* Galactostasis	46
* Galactolisis	46
Antecedentes Específicos	49
Hipótesis	55
Objetivos	55
Material y Métodos	56
Animales	56
Actividad 5'- Desyodasa (5'D)	56
* Preparación de los tejidos	56
* Purificación de la hormona	57
* Cuantificación de la actividad 5'D	57
* Cuantificación de proteínas	57
Análisis Estadístico	58
Protocolos Experimentales	58
Resultados	61
Efecto de Algunas Hormonas Galactopoyéticas	63
Efecto del Bloqueo Específico de Noradrenalina, Adrenalina y Prolactina Durante la Resucción	66
Efecto Dosis Respuesta y Caracterización del Tipo de Receptor Adrenérgico	67
Discusión	72

Conclusiones	77
Anexo: Farmacología de Agonistas y Antagonistas	
Adrenérgicos	i
Catecolaminas	i
Receptores α y β adrenérgicos	i
Adrenalina	ii
* Absorción	iv
* Destino de excreción	iv
Noradrenalina	iv
* Absorción, destino y excreción	iv
Isoproterenol	v
* Absorción, destino y excreción	v
Agentes Bloqueadores Adrenérgicos	v
Agentes Bloqueadores α-adrenérgicos	vii
Fentolamina	viii
Agentes Bloqueadores β-adrenérgicos	viii
Propranolol	viii

ABREVIATURAS

Acido hipoyodoso	HIO
Acido 3, 5, 3', 5' -tetrayodotiroacético	Tetrac
Acido 3, 5, 3' -triyodotiroacético	Triac
Adrenalina	A
Bromocriptina	Bro
Ditiotreitol	DTT
Diyodotirosina	DIT
Eje Hipotálamo-Hipófisis-Tiroides	HHT
Electrón	e ⁻
Elemento Tiroideo Responsivo	TRE
Fentolamina	Fen
Glándula Mamaria	GM
GlándulaTiroides	GT
Globulina Transportadora de Tiroxina	TBG
Hipoyodito	OI ⁻
Hormona Estimulante de la Tiroides	TSH
Hormona de Crecimiento	GH
Hormonas Tiroideas	HT
Iones de Calcio	Ca ²⁺
Isoproterenol	Iso
Monofosfato Cíclico de Adenosina	cAMP
Monoyodotirosina	MIT
Noradrenalina	NA
Oxitocina	OT
Prolactina	PRL
Propiltiouracilo	PTU
Propranolol	Pro
Proteínas Transportadoras de Hormonas Tiroideas	TBP's

RNA mensajero	mRNA
Síndrome de Eutiroidismo Enfermo	SEE
Tioglucona aúrica	TGA
Tiroglobulina	TgB
Tiroliberina u Hormona Liberadora de Tirotropina	TRH
Tiroperoxidasa	TPO
Tiroxina o Tetrayodotirosina	T₄
Triyodotironina	T₃
Transtirretina	TTR
Yodinio	I¹³¹
Yodo	I
Yoduro	I⁻

RESUMEN DE TESIS

EFFECTO DE ALGUNAS HORMONAS DEL COMPLEJO GALACTOPOYETICO EN LA ACTIVIDAD 5'-DESYODASA MAMARIA

Las hormonas tiroideas o yodotironinas (HT) son un grupo de biomoléculas comunes a todos los vertebrados, cuya característica distintiva es la presencia de yodo (I) como elemento estructural. Estas hormonas tienen efecto en prácticamente todas las células de los vertebrados y, al parecer, han sufrido una coadaptación fisiológica a lo largo de la escala evolutiva. Ya que la misma estructura participa en la regulación de procesos fisiológicos tan diversos como la termorregulación de los mamíferos; la metamorfosis en los anfibios; la muda de la piel en los reptiles, así como, en las migraciones estacionales y la reproducción de peces y aves. Aunado a lo anterior, las HT son indispensables para el desarrollo ontogénico de diversos tejidos del organismo durante períodos específicos denominados "períodos críticos": modulando procesos de crecimiento, arresto y diferenciación celular. Por último, las HT participan de manera primordial en la regulación del metabolismo energético del organismo.

La mayoría de los efectos fisiológicos producidos por las HT se ejercen a nivel del núcleo celular, donde existen receptores específicos que regulan de manera diferencial la transcripción de genes determinados. Estos receptores pertenecen a una superfamilia de factores de regulación genómica, que abarca a todos los receptores para mensajeros o moléculas (hormonas esteroideas, HT, ácido retinoico, etc.) los cuales participan directamente en la regulación del DNA. Los miembros de esta familia tienen como origen evolutivo un oncogen y guardan una gran homología entre sí.

Además del control neuroendocrino (eje hipotálamo-hipófisis-tiroides) que gobierna la síntesis y secreción de las HT por la glándula tiroides, recientemente, se demostró que un grupo de enzimas específicas denominadas desyodasas (presentes

en prácticamente todas las células del organismo) controlan la monodesyodación de las HT en tejidos extratiroideos y con esto su actividad biológica. Hasta el momento se han caracterizado bioquímicamente tres diferentes desyodasas y dos vías catabólicas. Dos de estas enzimas catalizan la reacción de activación conocida como 5'-desyodasa (5'-D); donde un átomo de yodo del anillo externo de la prohormona tetrayodotironina o tiroxina (T_4) es removido, produciendo la hormona biológicamente activa: triyodotironina o T_3 . La tercera enzima cataliza la vía de desactivación (5-D). Al desyodar el anillo interno de la T_4 o T_3 , produce la triyodotironina reversa (rT_3) o la diyodotironina (T_2), respectivamente, las cuales carecen de actividad biológica conocida. De esta manera, y dependiendo del estado fisiológico en que se encuentre cada tejido, se modula a nivel local la cantidad de hormona activa o inactiva y la intensidad de dicha actividad.

En el caso específico de la glándula mamaria (GM), el desarrollo, diferenciación y funcionalidad de ésta se regula con la interacción concertada de una serie de hormonas entre las que se incluye a las HT. Efectivamente, las HT son esenciales en la diferenciación celular y funcional del tejido alveolar. Este efecto involucra dos mecanismos y dos períodos diferentes: El primero, conocido como "arresto" o "compromiso de los brotes alveolares", ocurre durante los primeros 4 ciclos estrales, al iniciarse la pubertad. Y el segundo, durante la gestación; cuando el tejido alveolar se diferencia y crece para formar un epitelio secretor de leche. Además, se conoce que las HT son esenciales para mantener una adecuada lactación y se les ubica como las encargadas de regular, a nivel de todo el organismo, la compartimentalización del metabolismo energético para mantener la producción de leche.

Estudios realizados en el laboratorio han mostrado que la GM contiene 2 tipos enzimáticos desyodativos y que el tejido alveolar, en su etapa de formación o de funcionalidad (lactación) expresa una enzima rápida y para "exportación". La caracterización funcional de este tipo enzimático, ha permitido saber que el incremento de la actividad 5'-D mamaria después del parto, depende del estímulo de la succión, y su intensidad (actividad específica) está directamente relacionada con el tamaño de la camada. Con base en estos estudios, el objetivo de mi tesis consistió en

analizar la participación de algunas de las hormonas del complejo galactopoyético en la estimulación de la 5' desyodasa mamaria dependiente de la succión. Igualmente se analizó el tipo de receptor que media la estimulación catecolaminérgica.

Por todo lo anterior, y con el propósito de ubicar la tesis de este trabajo en su contexto fisiológico, consideré necesario revisar la información más relevante acerca de las hormonas tiroideas y la glándula tiroides, así como, la fisiología de la GM. Posteriormente, en un segundo capítulo, reviso de forma general los aspectos más importantes de la fisiología de la glándula mamaria lactante, conformando de esta manera el marco teórico en que se insertan la hipótesis y los objetivos del proyecto. Por último, en la tercera sección se describen los materiales y métodos empleados; los resultados obtenidos, así como la discusión del trabajo.

Aspectos Anatómicos y Funcionales de la Glándula Tiroidea

Anatomía de la Glándula Tiroidea

En la mayoría de los vertebrados, la glándula tiroidea (GT) se encuentra en la cara anteroposterior del cuello, situada por delante y a los lados de los conductos digestivo y respiratorio, entre las dos carótidas primitivas. La GT varía de forma entre las diferentes clases de vertebrados, pero la estructura folicular característica se conserva en todos ellos. En los teleosteos, en general, el tejido tiroideo se encuentra disperso a lo largo de toda la línea media, desde la cabeza hasta el riñón. En los peces cartilaginosos la tiroidea es usualmente una glándula unificada. En anfibios, aves y prototerios (monotremas y marsupiales), la GT está constituida por dos lóbulos sin conexión anatómica entre ellos. La tiroidea en los reptiles ha sido poco estudiada, sin embargo, la forma más común es la observada en las lagartijas, la cual es una sola estructura discoidal o lobulada bilateralmente. En la mayoría de los mamíferos, la glándula consiste de dos lóbulos piriformes, unidos por una banda transversal estrecha denominada istmo (para revisión véase: Gorbman, A. 1983 y McNabb, A. 1992).

En la rata y en el hombre, la tiroidea está rodeada completamente por dos envolturas fibroconjuntivas: una hoja interna, continua; conocida como vaina peritiroidea y otra externa, que adhiere a la GT a los órganos contiguos (Testut, L. y Latarget, A.; 1966).

La GT es una masa suave, roja pardusca y ricamente vascularizada; los pares de arterias superiores e inferiores, y de cuando en cuando la arteria impar, llamada tiroidea media o de Neubauer, le proporcionan un riego sanguíneo muy abundante con muchas anastomosis. Las venas forman un plexo notable en la superficie de la glándula: las tiroideas superiores salen de los lóbulos laterales y ascienden acompañando las arterias correspondientes. Las venas tiroideas medias reciben la sangre de la porción externa de los lóbulos, y las venas tiroideas inferiores

descienden del istmo y los polos inferiores de los lóbulos. Los vasos linfáticos atraviesan por el tejido conectivo interlobular. La glándula está inervada tanto por el simpático como por el parasimpático. El principal nervio asociado a la síntesis y liberación de HT es el vago, el cual además de inervar capilares y arterias, se encuentra en estrecha relación con las células foliculares (figura 1) (Lockhart; *et al.* 1965).

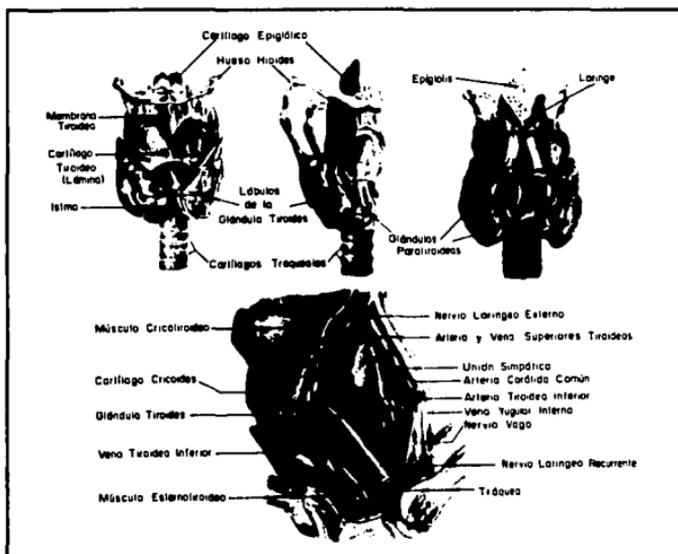


Figura 1: Anatomía de la Glándula Tiroidea Humana. La mitad superior de la lámina muestra las vistas ventral, lateral y dorsal de la glándula, donde se observan los lóbulos piramidales izquierdo y derecho unidos por un istmo. En la mitad inferior se muestra la inervación y vascularización del cuerpo tiroideo.

Histología de la Glándula Tiroides

La figura 2 esquematiza la unidad anatómico-funcional de la GT; el folículo tiroideo, en cuya estructura destacan: las células foliculares o células epiteliales, y el lumen folicular. En el hombre y otros mamíferos, además de las células foliculares, la GT contiene un segundo tipo celular con función endocrina, las células parafoliculares o células C. Estas células producen la hormona calcitonina y se encuentran, tanto en la pared folicular, como en los espacios interfoliculares donde se ordenan en grupos (Ekholm, R. 1979). El arreglo anatómico del folículo permite reconocer en cada célula un extremo apical adyacente al lumen, y otro basal externo al folículo. Las membranas laterales sellan los espacios intercelulares por medio de uniones celulares estrechas (*tight junctions*) entre sí; uniendo a las células próximas. Todo lo anterior, hace del epitelio una monocapa impermeable, que separa el lumen folicular del espacio extrafolicular, permitiendo el flujo dinámico de moléculas hacia dentro y fuera del folículo, sólo si estas atraviesan el citoplasma de las células epiteliales (McNabb, A. 1992; Capítulo 2, Ekholm, R. y Björkman, U. 1990).

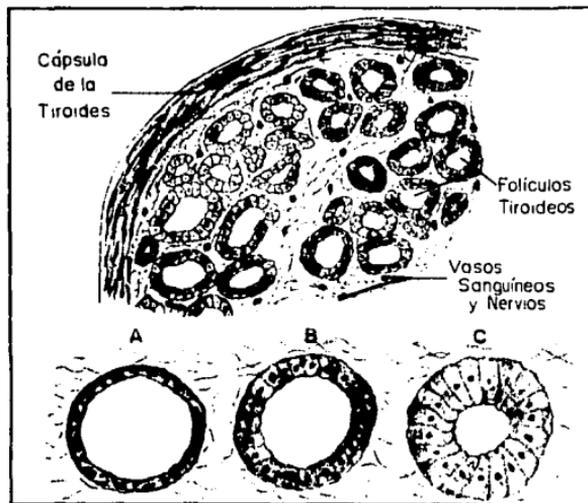
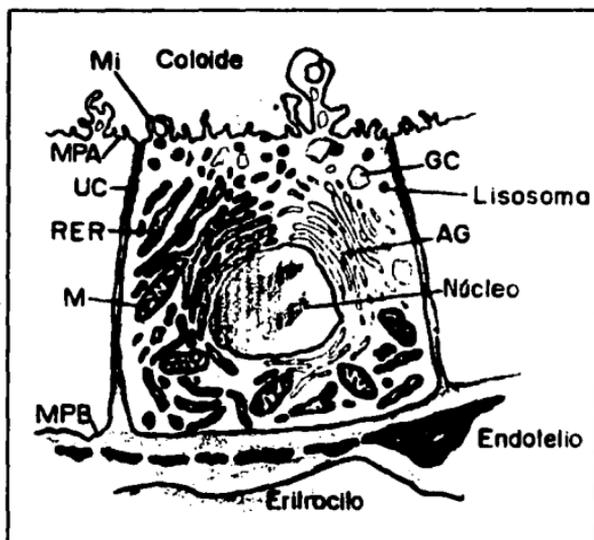


Figura 2: Esquematización de los Folículos Tiroideos. En la porción superior de la figura se ilustra un segmento de la glándula tiroidea. En la parte inferior se esquematiza la apariencia de los folículos tiroideos en tres diferentes estadios funcionales: (a) hipotiroideo, (b) eutiroideo y (c) hipertiroideo.

El lumen folicular es un espacio extracelular que contiene una solución proteica; conocida como coloide, rica en una proteína específica de la GT; la tiroglobulina o TgB. El coloide es el sitio de almacenamiento de HT unidas a proteína. Esta característica es la más distintiva de la GT, ya que es la única glándula endocrina que almacena su producto de secreción extracelularmente (figura 3) (para revisión véase Ekholm, R. y Björkman, U. 1990).

Figura 3: Ultraestructura de una Célula Folicular Tiroidea. Mi, micro-vellosidades; MPA, membrana plasmática apical; UC, uniones celulares; RER, retículo endoplásmico rugoso; M, mitocondria; MPB, membrana plasmática basal, GC, gota de coloide y AG, aparato de Golgi.



Ontogenia de la Glándula Tiroidea

El desarrollo de la GT, incluyendo la formación inicial del primordio tiroideo, la morfogénesis de los folículos y la diferenciación funcional de las células foliculares sigue un patrón muy similar en todos los grupos filogenéticos (Ericson, L. E. y

Fredriksson, G. 1990). En general, el desarrollo anatómico y funcional de la tiroides, la hipófisis anterior, y el hipotálamo ocurre de manera independiente, hasta conformar un eje coordinado de control hormonal, conocido con el nombre de eje hipotálamo-hipófisis-tiroides (HHT). El período embrionario en el que ocurren todos estos eventos está directamente relacionado con la estrategia de maduración neuronal que presente el organismo. Así, el desarrollo independiente de las glándulas individuales, la unión funcional de los componentes del eje y la sensibilidad tisular a HT ocurre en períodos embrionarios tempranos en las especies precociales, mientras que se retrasan al período periparto o perieclósión en las especies altriciales (para revisión véase: Ericson, L. E. y Fredriksson, G. 1990 y McNabb, A. 1992).

En general, en todos los vertebrados la GT se desarrolla a partir de una invaginación endodérmica en el piso de la faringe (Gorbman, A. y Bern, H. A; 1983). El resultado de esta invaginación, es una vesícula que permanece por algún tiempo unida a la cavidad bucofaringea por el ducto tirogloso; en la base de la lengua (Ericson, L. E. y Fredriksson, G. 1990). Cuando alcanza su destino final, la tiroides está constituida por cordones de células epiteliales, separadas por células mesenquimatosas, que invaden el tejido tiroideo antes de que las células epiteliales comiencen a reorganizarse en folículos tiroideos. La organización de la glándula en folículos está asociada con su maduración funcional (McNabb, A. 1992). La foliculogénesis comienza con la formación de uniones celulares estrechas de las membranas de células vecinas en los cordones celulares, a su vez, la aparición de uniones celulares estrechas está relacionada con el surgimiento del lumen folicular.

Foliculogénesis

Existen dos propuestas para explicar la formación del lumen folicular. De acuerdo con la primera, el lumen es formado extracelularmente, primero apareciendo como una hendidura entre células adyacentes de los complejos de uniones celulares. Posteriormente, los lúmenes se desarrollan gracias al crecimiento de la membrana plasmática apical de las células epiteliales y por la adición de nuevas células (Ishimura, K. y Fujita, H. 1979). La segunda propuesta (cita xc: Shepard, T. H. 1971)

sugiere que las células desarrollan canales intracelulares asociados con el retículo endoplásmico. Los canales parecen migrar hacia el ápice de los complejos celulares, los cuales empiezan a desarrollar los folículos. Este proceso continúa con la conversión de más complejos celulares en folículos y un incremento en la acumulación de coloide en los lúmina foliculares (Remy, L. *et al.* 1983).

Durante el último estado de desarrollo tiroideo (crecimiento folicular), la glándula está completamente organizada en folículos, continúa la acumulación de coloide, y se incrementan el tamaño y número de folículos (Shepard, T. H. 1967). Existe una considerable uniformidad en la progresión del desarrollo de la tiroides a lo largo de estos estados en los diferentes grupos de vertebrados (Gorbman, A. y Bern, H. A. 1983).

Hormonogénesis

La capacidad de la GT para producir HT, parece coincidir con la concentración de yodo tiroideo y su acumulación folicular en la mayoría de las especies. El tiempo al cual este evento sucede, es mucho más temprano en especies precociales que en especies altriciales. La adquisición de la capacidad para producir HT ocurre en orden secuencial (Ericson, L. E. y Fredriksson, G. 1990 y Shepard, T. H. 1967): a) el yodo es concentrado intracelularmente; b) las células epiteliales sintetizan TgB y tiroperoxidasa; c) se producen residuos tirosilos yodados en la TgB y, d) se sintetizan HT (Fisher, D. A. *et al.* 1977).

Durante los estadios tempranos de hormonogénesis, la tiroides parece desarrollarse de manera independiente, sin la influencia de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) (Fisher, D. A. *et al.* 1977, Fisher, D. A. y Klein, A. H. 1981 y cita *xc*: Nathanielsz, P. W. 1976.). Sin embargo, con la maduración secuencial del eje HHT, la importancia de la TSH para el crecimiento y el desarrollo funcional de la tiroides se incrementa (Ericson & Fredriksson; 1990).

Tanto en las especies precociales como en las altriciales, la tiroides alcanza su

mayor capacidad funcional durante la fase de crecimiento folicular. Sin embargo, esta fase ocurre durante la última mitad de la embriogénesis en especies precociales, y después del nacimiento/eclosión en especies altriciales (para revisión véase: Feldman, J. D. *et al.* 1961; McNabb, F. M. A. 1988 y Thommes, R. C. 1988).

Síntesis de Hormonas Tiroideas

Las HT son aminoácidos modificados que presentan átomos de yodo en su estructura. La secuencia general de eventos para su formación es: a) yodación de los carbonos 3 y 5 de los residuos tirosilo de la TgB, que dependiendo del número de átomos de yodo que contiene se denomina: mono (MIT) y diyodotirosina (DIT), b) acoplamiento de dos residuos yodotirosilos, dando lugar a las tironinas: tetrayodotironina o tiroxina (T₄) y triyodotironina (T₃), y c) proteólisis de la TgB y subsecuente liberación de las HT al torrente sanguíneo, por exocitosis de las células foliculares. Un esquema general de la síntesis y estructura de las HT se muestra en la figura 4.

Captura y Organificación del Yodo

El primer paso en la síntesis de las HT es la captura de yodo por las células foliculares de la GT, para su posterior organificación como parte estructural de las HT. El yodo es el micronutriente más pesado que metaboliza el organismo, cuya única fuente de aprovisionamiento es la ingesta diaria. El yodo ingerido es atrapado por las células tiroideas como yoduro (I⁻), por un mecanismo activo de transporte conocido como bomba de yodo, el cual se localiza en las membranas plasmáticas basales de las células foliculares, adyacentes a los capilares foliculares (cita xc: Bastomsky, C; 1974). Este mecanismo captura al I⁻ contra gradientes químicos, eléctricos y de concentración (Wolff, J; 1964). La GT no es única en su habilidad para concentrar yodo, este proceso es llevado a cabo por otros tejidos, incluyendo la mucosa gástrica, las glándulas salivales, las glándulas mamarias (GM), el plexo coroideo, los ovarios, la placenta y la piel (Taurog, A; 1991).

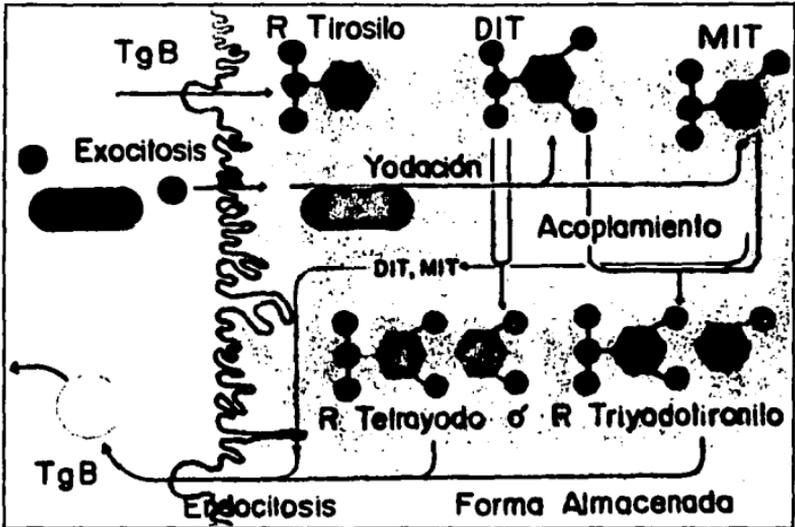


Figura 4: Síntesis de Hormonas Tiroideas. En esta figura se muestra la yodación de los residuos tirosilo de la tiroglobulina (TgB) por la tiroperoxidasa (TPO); formando mono (MIT) o diiodotirosina (DIT), acoplamiento de estas yodotirosinas dando lugar a la forma almacenada de las hormonas tiroideas en el lumen folicular; residuos unidos a la TgB tetrayodo ó triyodotironilo.

Para explicar el funcionamiento de la bomba de yodo, se ha propuesto la existencia de un sistema de cotransporte de Na^+ , donde el gradiente de iones generado por una $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATPasa}$, funciona como la fuerza motriz, mientras que un acarreador específico transporta al yodo hacia el interior celular (Ekholm, R. y Björkman, M; 1990). Todo lo anterior con base en la estrecha relación encontrada entre la actividad en membrana de una ATPasa, el transporte de sodio y, el transporte

de I' (O'Neil, B. *et al.* 1987 y Weiss, S. J. *et al.* 1984;). Por otro lado, la bomba de yodo es inhibida por algunos aniones univalentes de tamaño y volumen similar a los del yodo, como el perclorato (ClO_4^-); el pertecnato (TcO_4^-), y el tiocianato (SCN^-), los cuales actúan como inhibidores competitivos del sistema (Wolff, J; 1964).

Organificación del Yodo

El yodo acumulado en la tiroides es unido rápidamente a proteínas y en menor proporción a lípidos. Según Bastomsky cerca del 95% del yodo almacenado en la glándula está unido orgánicamente a una glicoproteína específica de la GT, la tiroglobulina o TgB (Abramson, M, J. *et al.* 1987). La TgB tiene un peso molecular de 660 KiloDaltones (KDa), un coeficiente de sedimentación de 19S, un punto isoeléctrico cercano a un pH de 4.5. Está formada por 2 subunidades casi idénticas de peso molecular similar (330 KDa, 12S), que se encuentran unidas por uniones covalentes (puentes disulfuro) y no covalentes (McNabb, A; 1992 y Ekholm, R. y Björkman, U; 1990).

Salvatore y colaboradores (Salvatore, G. *et al.* 1965) han descrito dímeros y trímeros de la forma 19S, con coeficientes de sedimentación de 27S y 37S respectivamente, que representan un pequeño porcentaje (cerca del 10%) de la proteína tiroidea coloidal. Se ha sugerido que la TgB 27S solo se puede formar después de alteraciones químicas sufridas como producto de la yodación en la forma 19S (Fрати, L. *et al.* 1974).

La regulación de la magnitud de la síntesis de TgB parece ocurrir principalmente a nivel de su transcripción (Robbins, J. y Salvatore, G. 1985). Después de que las estructuras proteicas de la molécula son formadas (probablemente como subunidades 12S), la TgB pasa al retículo endoplásmico, donde las subunidades son unidas y la molécula es glicosilada durante su tránsito al aparato de Golgi (Ekholm, R; 1981). Los carbohidratos unidos representan más del 10% de la molécula completa de TgB.

Por otra parte, la TgB posee una estructura primaria muy conservada entre los vertebrados (Lissitzky, S; 1984). La cadena monomérica de polipéptidos contiene cerca de 70 residuos tirosilos, un número que no difiere significativamente del contenido promedio de tironinas de todas las proteínas analizadas en un banco de datos (Taurog, A. 1991). Sin embargo, la TgB contiene tirosinas en sitios específicos conocidos como sitios hormonogénicos, donde preferencialmente se lleva a cabo la formación de las yodotironinas (Chernoff, S. B. y Rawitch, A. B. 1981; y Marriq, C. *et al.* 1982).

Para la formación de HT; además de la TgB, se requiere la presencia de una peroxidasa, que en la tiroides recibe el nombre de tiroperoxidasa (TPO). Esta enzima desempeña varias actividades catalíticas importantes en la producción de HT. La TPO cataliza las reacciones de yodación de los residuos tirosilo de la TgB, así como las reacciones de acoplamiento de estos para la formación de las HT. Además, se ha descrito que en la glándula mamaria también se encuentra una peroxidasa similar llamada lactoperoxidasa, que puede llevar a cabo estas reacciones enzimáticas eficientemente (Taurog, A. *et al.* 1974). La TPO es una glicoproteína unida a membrana, que posee un grupo hemo y que presenta un peso molecular entre 90 y 107 KDa, y un punto isoeléctrico estimado en un pH de 5.75 (Rawitch, A. B. *et al.* 1979).

La secuencia completa de aminoácidos de las TPO porcina, humana y de rata ha sido deducida, presentando un alto grado de homología (Kimura, S. *et al.* 1989 y Magnusson, R. P. *et al.* 1987). Taurog han propuesto que la TPO localizada en la membrana plasmática apical de las células foliculares, se encuentra orientada con el sitio catalítico hacia el lumen folicular (Ekholm, R. y Björkman, U. 1990). Complementario a esta función, la actividad catalítica de la TPO requiere la presencia de H_2O_2 . Estudios recientes han demostrado que existe una fuerte correlación entre la localización de la generación de H_2O_2 y la yodación de la TgB. El H_2O_2 es formado en la superficie de la membrana plasmática apical por un sistema NADPH-oxidasa que es estimulado por iones de calcio (Ca^{2+}) (Ekholm, R; 1981).

El I^- que es concentrado en la tiroides tiene que ser oxidado antes de ser unido a los residuos tirosilo presentes en la TgB. La oxidación del I^- a un estado más oxidado es catalizada por la TPO en presencia de H_2O_2 . La secuencia general de eventos en la organificación del yodo es la oxidación de la TPO por el H_2O_2 , formándose así un complejo que es responsable de la posterior oxidación del I^- , un proceso que puede involucrar la transferencia de un electrón (e^-); dando como resultado la creación de un radical libre $I\cdot$, o I_2 formado por la combinación de dos radicales libres, o el ión yodinio (I^+), el cual resulta de la pérdida de dos e^- (para revisión véase: McNabb, A; 1992 y Taurog, A; 1991).

Existen tres posibles mecanismos que explican la yodación: a) el mecanismo de radical libre, b) el ión I^+ como el intermediario de la yodación y c) el hipoyodito (OI^-) también como intermediario de este metabolismo. Estos tres mecanismos concuerdan en que la yodación ocurre en la enzima, que el primer evento anabólico es la oxidación de la TPO, y que tanto el residuo tirosilo de la TgB y el intermediario yodado se unen a la TPO para la reacción de yodación. La controversia se centra simplemente en la forma química del intermediario yodado que se unirá a los residuos tirosilos de la TgB.

El mecanismo de radical libre ha sido revisado por Nunez y Pommier (Nunez, J. y Pommier, J. 1982). Esta hipótesis propone que existen dos sitios activos en la forma oxidada de la TPO: un sitio une I^- , mientras que el otro se une a un residuo tirosilo de la TgB. La pérdida de un e^- de cada sustrato da como resultado radicales libres de $I\cdot$ y tirosilo, los cuales posteriormente son unidos, formando así una MIT. Una reacción similar puede unir una MIT con otro I^- para producir una DIT.

Ohtaki y colaboradores (Ohtaki, S. *et al.* 1981) han presentado evidencia cinética que indica la transferencia de 2 e^- en la reacción entre el yodo y la TPO

oxidada, y que el intermediario de la reacción puede ser la TPO-I⁺. Este mismo grupo ha reportado (Ohtaki, S. *et al.* 1982) que también la oxidación de la tirosina catalizada por la TPO involucra una oxidación de dos e⁻. Ambas evidencias están en desacuerdo con el mecanismo de radical libre.

En el tercer mecanismo propuesto, en el cual el hipoyodito (OI⁻) es considerado como el intermediario, la TPO y el H₂O₂ interaccionan para formar una TPO oxidada que contienen un átomo de oxígeno, esta forma oxidada posteriormente interacciona con el yodo para formar un complejo TPO-OI⁻ que cataliza la yodación de un residuo tirosilo (Taugog, A; 1991). Un mecanismo alternativo para esta reacción puede ser la formación de un ácido hipoyodoso (HIO) libre, esta hipótesis es apoyada por los resultados de los análisis cinéticos de la yodación catalizada por la lactoperoxidasa (cita xc: Dunford, H. B. y Raiston, I. M. 1983). Los mecanismos que involucran el complejo TPO-OI⁻ y el HOI, concuerdan con las observaciones realizadas por Ohtaki y colaboradores, indicando de esta manera que la yodación involucra un mecanismo de doble transferencia de e⁻.

Hormonogénesis y Secreción

Una vez que se han formado las yodotironinas, los residuos tirosilo son oxidados por la TPO a una forma activada, siendo estos acoplados dentro de la misma molécula de TgB; formando un intermediario éter-quinol. Posteriormente, el intermediario es separado por la ruptura de un enlace entre el carbono 1 del anillo aromático y el residuo metilo del aminoácido tirosina, que forma parte de la cadena polipeptídica de la TgB. Esta reacción da como resultado un residuo de yodotironina, que permanece unido a la TgB (para revisión véase: Taurog, A; 1991).

La activación de las yodotirosinas requiere de dos equivalentes (2e⁻) de oxidación. De esta manera se pueden formar 2 radicales yodotirosilos, o que uno de los dos radicales sea oxidado a un catión (para revisión véase: Ekholm, R. y Björkman, U; 1990).

La unión de dos DIT de como resultado una tiroxina o T_4 , y la unión de un MIT con un DIT produce una triyodotironina o T_3 . Al parecer, las reacciones de yodación y de acoplamiento son catalizadas por diferentes formas de TPO (para revisión véase: Ekholm, R. y Björkman, U; 1990).

Las HT son almacenadas en la GT como derivados de aminoácidos unidos en la TgB. Dado que estas son liberadas de la glándula como yodotironinas libres, su secreción debe ser precedida por una proteólisis de la TgB. De esta manera, la secreción de las HT por la GT inicia con la formación de pseudópodos en las membranas apicales de los folículos tiroideos, los cuales endocitan porciones del lumen folicular, que aparecen posteriormente dentro de las células como gotas de coloide. Poco después de la endocitosis de coloide, algunos lisosomas migran hacia la parte apical de la célula y se fusionan con los endosomas, los cuales han comenzado a migrar hacia la parte basal de la célula. Los fagolisosomas así formados; mantienen la dirección de la migración de los endosomas, observándose en su interior la desaparición gradual del coloide, indicando que la proteólisis de la TgB ha ocurrido. Los productos de la digestión: aminoácidos yodados y algunos péptidos digeridos parcialmente, son liberados selectivamente por la membrana basal de los folículos tiroideos (para revisión véase: McNabb, A. 1992). Existe evidencia que indica que las yodotirosinas no son liberadas por la GT, estas son desyodadas dentro de la glándula por una enzima conocida como desyodasa tiroidea. Rosenberg y Goswami (Rosenberg, I. N. y Goswami, A. 1979) han mencionado que el yodo liberado de los MIT y los DIT por desyodación, es parcialmente reutilizado para la síntesis hormonal y parte se pierde de la glándula por medio del mecanismo conocido como "goteo" de yodo.

Bajo circunstancias normales, las HT no entran a la circulación por un proceso exocítico, la GT tiene un almacén hormonal presecretorio, que posiblemente controla la liberación de las HT por las células tiroideas. Además de las gotas de coloide, existen vesículas endocíticas mucho más pequeñas formadas por la invaginación de la membrana apical de las células foliculares, este fenómeno propuesto por Seljelid y colaboradores (Seljelid, R. 1967 y 1970), conocido como micropinocitosis, y que opera

bajo condiciones fisiológicas, parece ser análogo a cualquier proceso de endocitosis mediado por receptores, donde se ha descrito un mecanismo de pinocitosis selectivo para TgB.

Proteínas Transportadoras de Hormonas Tiroideas.

Las HT son moléculas hidrofóbicas, por lo que requieren de una serie de proteínas transportadoras que las distribuyan en los tejidos periféricos. Este sistema de transporte incluye un grupo de proteínas circulantes que varían significativamente en concentración, afinidad y constantes de disociación por las HT. El resultado neto es que más del 99% de las yodotironinas circulantes viajan unidas a proteína. En la tabla I se muestran las características más relevantes de las proteínas transportadoras de HT (TBP's). Al igual que para muchas otras proteínas séricas, los hepatocitos son los principales proveedores de dichas proteínas. A continuación y de manera resumida se analiza individualmente cada una de las proteínas transportadoras de HT.

La globulina transportadora de tiroxina (TBG), un componente menor de las α -globulinas, acarrea cerca del 70% de la T_4 y T_3 circulante, gracias a su alta afinidad por estas hormonas. Esta proteína parece no tener otra función fisiológica. La TGB es una glicoproteína globular compacta, formada por una cadena polipeptídica sencilla y es la menos abundante de las tres principales TBP's. Esta proteína presenta una alta afinidad y baja capacidad por las HT. La T_3 es unida 10-20 veces menos ávidamente que la T_4 , y es disociada más rápidamente.

La transtiretina o prealbumina transportadora de tiroxina (TTR), une cerca del 10% de las HT circulantes. Esta proteína globular, es un tetrámero de subunidades idénticas y de una extraordinaria estabilidad. Cada molécula de TTR contiene dos sitios idénticos para unir T_4 , localizados en un canal formado por las 4 subunidades, en la parte central de la molécula. Su constante de afinidad por las HT es mucho menor que la presentada por la TGB. La TTR tiene la función adicional de formar un

complejo con la proteína transportadora de retinol (vitamina A), y por esto interviene en el transporte del retinol como en el de las HT. Dado que cerca de un tercio de las moléculas de TTR en un suero normal transportan una molécula de proteína transportadora de retinol, y dado que cada una de estas moléculas solo acarrea una sola molécula de vitamina A, la interacción de estas moléculas juega un papel fisiológico muy importante. Además, se conoce que esta proteína es sintetizada en los plexos coroideos y es la encargada de transportar intracerebralmente a la T_3 , que es selectivamente captada por estas estructuras.

La albúmina sérica, una proteína que acarrea una multitud de pequeñas moléculas en sangre, transporta entre el 15% al 20% de las T_4 y T_3 . Pocas moléculas de albúmina transportan moléculas de HT, pero gracias a la alta concentración de esta proteína en suero, cerca del 15% de la T_4 circulante y posiblemente más de T_3 son transportadas por la albúmina. Su constante de afinidad por las hormonas es aún menor que la presentada por la TTR, y por esto los complejos formados entre la albúmina y la hormona se disocian rápidamente. La albúmina también es una molécula globular compacta, formada por una cadena polipeptídica sencilla. Esta proteína posee un sitio de unión relativamente fuerte para T_4 y T_3 , además de 5 sitios de baja afinidad.

Las lipoproteínas transportan una fracción menor de las HT circulantes. Entre los diferentes tipos de lipoproteínas, las de alta densidad son las mejores transportadoras, acarreando cerca del 3% del total de T_4 , y 6% del total de T_3 en suero. Dado que estas proteínas son internalizadas por receptores específicos en las células, pueden tener un papel especial en la fisiología de las HT.

Todos los vertebrados tienen alguna de las proteínas transportadoras en sangre, pero es principalmente en los mamíferos donde se encuentran proteínas con gran afinidad y baja capacidad que se asemejan a la TBG. La TTR es la más ampliamente distribuida entre las diferentes especies de vertebrados.

	TBG	TTR	ALB
Peso Molecular (KDa)	63	55	69
Estructura	Monomérica	Tetramérica	Monomérica
% de Carbohidratos	30	1	
No. de Sitios de Unión para T4/T3	1	3/1	6/1
Constante de Asociación para T4/T3	$2 \times 10^{10} / 2 \times 10^9$	$1.5 \times 10^8 / 2.5 \times 10^5$	$1.5 \times 10^6 / 1 \times 10^7$
% de Saturación para T4/T3	30/0.6	0.5/0.001	0.0015/0.001

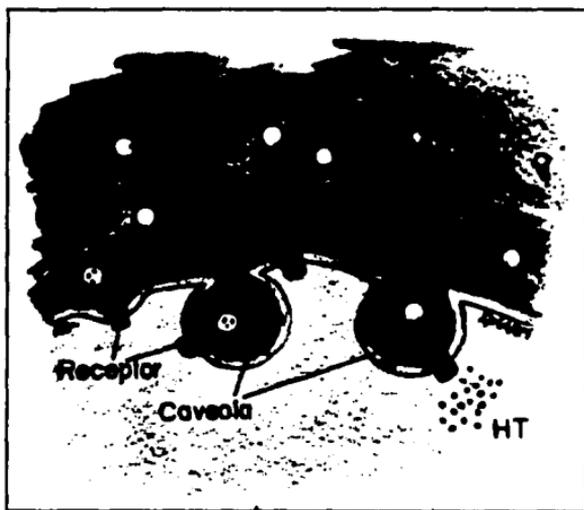
Tabla I: Características más relevantes de las proteínas transportadoras de hormonas tiroideas. TBG, globulina transportadora de tiroxina; TTR, transtirretina y ALB, albúmina sérica. Cita: Hennemann, G. y Roelof, D. 1990 y Robbins, J. 1991.

Las proteínas transportadoras de HT son un aspecto importante de la fisiología tiroidea. Se han propuesto tres funciones fisiológicas desempeñadas por las TBP's: a) almacenamiento extratiroideo de HT, b) una acción de amortiguación, esto es, que las proteínas transportadoras capturen las hormonas liberadas, protegiendo a los tejidos de una exposición excesiva a HT; y c) una función de liberación de hormonas que permita a la poza de hormonas libres ser continuamente abastecida, haciéndolas más accesibles a las células. La homeostasis tiroidea está caracterizada por el mantenimiento de un aporte hormonal estable a los tejidos, resultando en acciones hormonales constantes. Aparentemente el almacenamiento extratiroideo de hormonas parece contribuir a esta homeostasis.

Efectos y Mecanismos de Acción de las Hormonas Tiroideas.

Para ejercer sus efectos fisiológicos, las HT tienen que penetrar al interior celular y alcanzar su objetivo, que puede ser genómico o extranuclear. Aun cuando las HT son moléculas hidrofóbicas, estas no penetran a la célula por simple difusión. Recientemente se ha sugerido la participación de un mecanismo celular activo para la internalización de las HT. Se trata de un mecanismo especial de endocitosis mediado por receptor, conocido como potocitosis, que es de alta afinidad, capacidad limitada, y parcialmente dependiente de energía (figura 5) (Krenning, E. P. y Docter, R. 1986 y Pontecorvi, A. y Robbins, J. 1986).

Figura 5: Potocitosis, mecanismo especial de endocitosis mediado por receptor, que es de alta afinidad, capacidad limitada y parcialmente dependiente de energía.



Una vez que las HT han penetrado la membrana celular, son capturadas por una serie de proteínas citosólicas, de capacidad elevada y afinidad media, que principalmente cumplen tres funciones: a) reservas intracelulares de HT, b)

transportadoras de yodotironinas al núcleo y, c) reguladoras de la conversión de T_4 a T_3 (Oppenheimer, J. H. y Schwartz, H. L. 1986).

Las HT tienen múltiples y variados efectos y acciones fisiológicas en el individuo, que van desde un nivel general u orgánico; hasta un nivel celular/molecular. Estos pueden ser clasificados de manera general como efectos en el metabolismo y el desarrollo, separando comúnmente al desarrollo en crecimiento y maduración. Algunos efectos parecen ser controlados exclusivamente por HT (acciones directas), mientras que otros son permisivos o indirectos, y requieren interacciones con otras hormonas y/o factores tisulares para producir alguna respuesta fisiológica.

Mecanismos Genómicos

Está ampliamente aceptado que la mayoría de los efectos producidos por las HT ocurren vía receptores nucleares específicos para T_3 . Aunque, actualmente se considera a la T_4 como una prohormona, se ha demostrado que ella puede tener efectos directos, presumiblemente a través de su unión a receptores nucleares (McNabb, A; 1992 y Davis, P. J; 1991). Dependiendo de su concentración, los efectos bioquímicos/metabólicos de las HT, presentan un aspecto bifásico. A concentraciones fisiológicas, las HT son anabólicas, mientras que a altas concentraciones son catabólicas. Además, los períodos de latencia de los diferentes efectos es muy variado. Las acciones tempranas (minutos a una hora) son aquellos asociados con modificaciones en la permeabilidad de la membrana a iones, fosfonucleótidos, o nutrimentos moleculares, como aminoácidos o glucosa. Tales eventos comúnmente involucran acciones asociadas con mitocondrias o membranas plasmáticas. También en algunos casos, la activación de ciertos genes, por la acción de la T_3 sobre receptores nucleares, son iniciados de forma temprana. Entre los eventos a tiempos intermedios (de 2 a 18 horas) se encuentran incrementos en la producción de proteínas y la estimulación de la respiración celular. Los efectos metabólicos sistémicos generalmente toman de 12 a 24 horas, mientras que las acciones de

desarrollo o crecimiento celular son aparentes después de 36 horas (para revisión véase: McNabb, A; 1992 y Nikodem, V. M. *et al.* 1990).

En organismos homeotermos, es claro que las HT juegan un papel importante en el control general de los eventos metabólicos involucrados en la termogénesis obligada (metabolismo basal) y el mantenimiento de la temperatura corporal (termogénesis facultativa). En el caso de los animales poiquilotermos, las HT solo participan en la termogénesis obligada (consumo de O₂) (Oppenheimer, J. H. y Schwartz, H. L. 1986). Metabólicamente, los principales efectos de las HT en casi todos los tejidos de los animales homeotermos consisten en un aumento del nivel basal de consumo de oxígeno (efecto calorigénico), e incrementos en el nivel de oxidación de glucosa. Bioquímicamente, las HT movilizan las reservas energéticas produciendo efectos hiperglucémicos y lipolíticos. Incrementos en las HT, se acompañan de incrementos en el metabolismo periférico de la glucosa, así como de la lipólisis (Nikodem, V. M. *et al.* 1990).

Mecanismos Mitocondriales

Uno de los aspectos menos conocidos de las acciones fisiológicas de las HT, son sus efectos sobre las mitocondrias. Básicamente, los estudios se han centrado en la hipótesis de que las HT incrementan el consumo de oxígeno aumentando la producción mitocondrial de ATP en tiempos cortos, elevando los coeficientes de ATP/ADP, e incrementando el gasto energético (empleo de ATP) celular. Estas respuestas rápidas observadas en las mitocondrias, no son mediadas por síntesis de proteínas, la cual apoya la idea de que las HT tienen efectos directos sobre la cadena oxidativa (Sterling, K. M. A. *et al.* 1988).

Receptores Nucleares

Tata y colaboradores fueron los primeros en sugerir que los efectos de las HT podían estar mediados por la interacción primaria de las hormonas con componentes nucleares (Tata, J. R. *et al.* 1963). Estos receptores nucleares de alta afinidad y baja

capacidad para T_3 fueron identificados por primera vez en 1972 en núcleos de hepatocitos y nefronas de rata (Oppenheimer, J. H. *et al.* 1972). Estos sitios de unión fueron identificados como proteínas no histonas. Actualmente se reconoce que los efectos de las HT son iniciados por la regulación de la expresión de genes específicos, reflejados por los cambios en los niveles de RNA mensajero (mRNA). Estudios de las regiones anteriores a la posición 5' (o menos comúnmente, otras regiones) de los genes blanco de la T_3 han definido secuencias nucleotídicas que parecen ser esenciales para la regulación de la expresión de los genes por las HT y que han sido designados como un elemento tiroideo responsivo (TRE). Se asume que el TRE contiene el sitio al cual el complejo T_3 -receptor se une con el gene. La secuencia de nucleótidos de los TRE identificados hasta la fecha muestran un sorprendente grado de diversidad. Un ejemplo de lo anterior a sido la identificación de un TRE en el gen que codifica para la hormona de crecimiento en la hipófisis, estableciéndolo como un blanco directo para la T_3 . Otras evidencias indican que las HT ejercen un efecto inhibitorio directo en la expresión de los genes para las subunidades α - y β - de la tirotropina hipofisiaria (TSH) (Oppenheimer, J. H. 1991).

Dos homólogos celulares del gen *v-erb A* del retrovirus de la eritroblastosis aviaria, codifican para receptores nucleares distintos que unen T_3 (Vensstrom, B. L. *et al.* 1980). Dos dominios del genoma retroviral juegan un papel cooperativo en la expresión completa de la función viral. Los estudios de comparación de secuencias han revelado una homología estructural del 50% entre la región de unión a esteroides del receptor para glucocorticoides y la proteína del *v-erb A* (Weinberger, C. *et al.* 1985). El receptor para glucocorticoide está formado por cuatro dominios característicos, y un dominio amino-terminal seguido por una región de unión a DNA rica en cisteínas. Esta región contiene dos secuencias coordinadas de cinc (Zn), que se piensa se intercalan con la doble hebra de DNA (dedos de Zn) (Hollenberg, S. M. *et al.* 1985). Esto es seguido por un dominio denominado arbitrariamente región de "cierre" y después la región de unión al ligando en el carboxilo terminal. El hallazgo por Sap y colaboradores (Sap, J. *et al.* 1986), de que el producto traducido del mRNA de *erb A* clonado de una librería genómica de embriones de pollo fuera nuclear,

proveyó de mayor evidencia que apoyaba el concepto de que el receptor de T_3 fuera codificado por un homólogo al del gene *v-erb A* (*c-erb A*). Estos hallazgos culminaron en el descubrimiento de la existencia de una superfamilia de receptores que codifican para una gran variedad de receptores para hormonas hidrofóbicas. Estos incluyen receptores para todas las hormonas esteroideas (Evans, R. M. 1988), así como, factores no clasificados convencionalmente como hormonas, incluyendo al ácido retinoico y un gen inducible por ecdysona en *Drosophila* (para revisión véase: Oppenheimer, J. H. 1991 y Nikodem, V. M. *et al.* 1990).

Existen al menos dos genes fuertemente conservados que codifican para proteínas receptoras nucleares de T_3 . El gen aislado de librerías genómicas de pollo, denominado α , y aquel aislado de humano, denominado β . Posteriormente se confirmó la existencia de ambos genes en pollo, ranas, ratas, y humanos (Nikodem, V. M. *et al.* 1990). De gran interés ha sido la demostración de los productos de corte alternativos del transcrito inicial de cada uno de estos genes. Tanto en ratas como en humanos se generan dos mRNA's del transcrito inicial del α -gen, designándolos *c-erb A- α_1* y *c-erb A- α_2* (Izumo, S. y Mahdavi, V. 1988). El gen *c-erb A- α_2* produce una proteína incapaz de unir T_3 . Así la α -proteína no puede considerarse como un verdadero receptor para T_3 . Entre la gran variedad de tejidos estudiados, la más alta concentración de mRNA *parac-erb A- β_2* se encuentra en el cerebro, seguido por el hígado, corazón y riñón. Todos los tejidos que contienen β_1 -mRNA también contienen α_1 -mRNA y aquella variante para el receptor *c-erb A- α_2* (figura 6).

Los TRE se encuentran entre los 190 y 173 pares de bases arriba del sitio de inicio de la transcripción (Glass, C. K. *et al.* 1987). Varios de los TRE cuando se encuentran alineados, muestran una simetría característica de otros miembros de la superfamilia de genes *c-erb A* (Petty, K. J. *et al.* 1989). Existe evidencia que sugiere que algunos receptores nucleares se pueden unir a elementos receptores de hormonas como dímeros y cada receptor se une a la mitad de un TRE. Por otro lado,

se sugiere que la formación de heterodímeros formados entre receptores tiroideos y otros receptores nucleares, tales como aquellos para la vitamina A, incrementan el repertorio de expresiones biológicas y por lo tanto permiten la expresión de estimulaciones hormonales tejido-específicas y graduadas (para revisión véase: Oppenheimer, J. H. 1991 y McNabb, A. 1992).

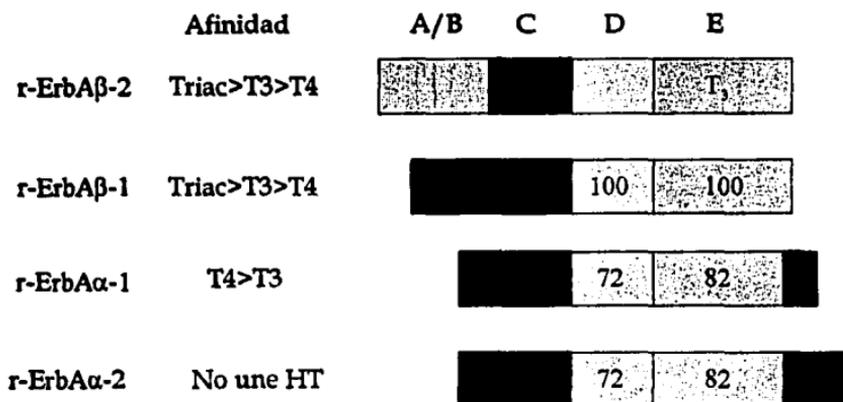


Figura 6: Esquemmatización de los Receptores Nucleares para Hormonas Tiroideas. Triac, ácido 3, 5, 3'-triyodotiroacético; región A / B, hipervariable; región C, unión a DNA; región D, puente entre regiones C y E, y región E, dominio de unión de ligando. Los números dentro de las cajas se refieren al porcentaje de similitud con respecto a r-erbA-2. Cita: Nikodem, V. M. *et al.* 1990.

Está ampliamente aceptado que la interacción entre la T_3 y sus receptores nucleares, da como resultado un incremento en la tasa transcripcional de los genes blanco, y que esta tasa es proporcional a la concentración de los complejos de receptores nucleares ocupados (Nikodem, V. M. *et al.* 1990).

Hasta la fecha se han identificado los siguientes genes (tabla II):

Gene	Nivel de Transcripción	Tiempo de Respuesta (h)	Fuente
GH	↑10	<0.5	Células GC
Orrutin-aminotransferasa	↑2	>4	Riñón de Rata
Fosfoenolpiruvato-carboxicinasa	↑4-6	ND	Hígado de Rata
Enzima Mállica	↑3-4	2	Hígado de Rata
Cadena pesada α-Miosina	↑	<4	Miocardio de Rata
Renina	ND	1	Ratón
Citocromo C	↑3-4	12	Riñón de Rata
Na, K-ATPasa subunidad α	↑1.4	ND	Hígado de Rata
Na, K-ATPasa subunidad β	↑1.8	ND	CR de Rata
HMG-CoA reductasa	↑5	24	Hígado de Rata
S14	↑3-9	0.1	Hígado de Rata
TSH subunidad α y β	↓ y ↓↓	0.5	Tumor de Ratón
Cadena pesada β-Miosina	↓	<4	Corazón de Conejo
TRH	↓	ND	Hipotálamo Rata

Tabla II: En esta tabla se muestra el efecto de las hormonas tiroideas en la regulación de genes involucrados en el metabolismo celular, expresión de hormona de crecimiento (GH) y el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides. ND, no determinado; GC, células hipofisarias y CR, corteza renal. Modificado de: Nikodem, V. M. *et al.* 1990.

Regulación de la Función de la Glándula Tiroidea

Los dos principales factores que controlan la función tiroidea son: el eje HHT y el aporte dietético del yodo. Un esquema general del eje HHT se muestra en la figura 7. La TSH, sintetizada y secretada por las células tirotrópicas de la hipófisis anterior, es el factor neuroendocrino más importante que modula la función tiroidea (para revisión véase: Morley, J. E. 1981 y Magner, J. A. 1990). Sin TSH, la GT tiende a atrofiarse, manifestándose un decremento en la producción hormonal, y por el otro lado su exceso causa hipertrofia e hiperplasia tiroidea y una producción hormonal desmesurada.

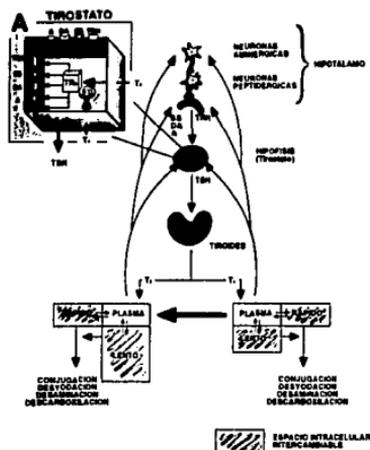


Figura 7: Eje Hipotálamo-Hipófisis-Tiroidea. Se considera el tirostato del sistema porque recibe las principales señales para estimular o bien para inhibir la síntesis de HT. TRH, factor hipotalámico liberador de tirotrópica; TSH, hormona estimulante de la tiroidea; DA, dopamina; A, adrenalina; SS, somatostatina y TR's receptores nucleares. El recuadro muestra los principales reguladores de la célula hipofisiaria productora de TSH o tirotrópica.

La TSH es una glicoproteína con un peso molecular entre 28 a 30 KiloDaltones (KDa), que consiste de dos subunidades; designadas α y β , que se mantienen ensambladas por uniones no covalentes. La subunidad α es también común a otras tres hormonas glicoproteicas; la hormona folículo estimulante, la hormona luteinizante, y la gonadotropina coriónica, en tanto que la subunidad β de cada una de estas hormonas les confiere la especificidad biológica (Pierce, J, 1971).

Las TSH estimula casi todos los aspectos de la producción y liberación de HT en la tiroides. La acción de la TSH en la GT se inicia con su unión a receptores específicos a TSH, localizados en las membranas plasmáticas basales de las células foliculares tiroideas (Chambard, M; *et al.* 1983). Esta unión activa tanto al sistema de adenilato ciclasa, como al de fosfolipasa C (Field, J; *et al.* 1987) La activación de la adenilato ciclasa y la acumulación subsecuente de monofosfato cíclico de adenosina (cAMP), estimula la disociación de las subunidades regulatoria y catalítica de la proteína cinasa dependiente de cAMP (proteína cinasa A), con la subsecuente fosforilación de varias proteínas celulares y la activación de algunos efectos biológicos específicos. Entre estos efectos se encuentra la transcripción del gen de la TgB, la yodación y exocitosis hacia el lumen de la TgB, así como la endocitosis y proteólisis de fragmentos de coloide, la liberación de HT, la captación de yodo y la división celular (Field, J. B. 1991).

En el control de la secreción de la TSH participan la hormona liberadora de tirotrópina o tirotróberina (TRH), la somatostatina y las HT principalmente. La TRH; un tripéptido hipotalámico, alcanza a la hipófisis anterior por medio del sistema porta adenohipofisiario. La TRH interactúa con receptores específicos en los tirotrópos para liberar TSH, y en los mamotrópos para liberar prolactina. Las acciones de la TRH están mediadas por el sistema antes descrito de fosfolipasa C. Al parecer, la liberación de iones de calcio intracelular y la fosforilación de proteínas específicas por la proteína cinasa C, estimulan la exocitosis, así como, la glicosilación y ensamblaje de las subunidades de la TSH (Wilber, J. F. y Yamada, M. 1990). Taylor y Weintraub (Taylor, T. y Weintraub, B. D. 1985 a y b).

El incremento de TSH como respuesta del tirotripo al estímulo de TRH, es controlado por la inhibición (retroalimentación negativa) de las HT. Estudios realizados en un gran número de especies de vertebrados, han demostrado esta relación inversa, entre la concentración circulante de HT y la secreción de TSH y/o el número de tirotripos (cita xc: Tong, W; 1974).

Tanto la T_4 como la T_3 son capaces de inhibir la secreción de TSH; teniendo mayor efecto la T_3 , la cual se une a receptores nucleares específicos. Diversos estudios han mostrado que la unión de T_3 a receptores nucleares en los tirotripos, regula la producción tanto de la subunidad α como de la β de la TSH, por inhibición de la transcripción de ambos mRNA's (Chin, W; *et al.* 1985).

Cerca de la mitad de la T_3 unida a receptores nucleares en la hipófisis proviene de la monodesyodación intracelular de la T_4 (Silva, J. E. y Larsen, P. R. 1978). Aunado a lo anterior, se ha propuesto que la diferencia o proporción entre T_3 circulante/ T_3 proveniente de T_4 por desyodación local es el mecanismo por el cual el tirotripo responde a los cambios en los niveles circulantes de HT (Scanlon, M; 1991), regulando de esta manera la síntesis y liberación de las HT. Por lo tanto los tirotripos son el sensor del eje HHT; es decir el "tirostato".

Además de la TRH y las HT, otras hormonas de origen hipotalámico juegan un papel importante en la secreción de TSH. La somatostatina, puede inhibir la secreción de TSH en ratas (Arimura, A. y Schally, A. V. 1976). El neurotransmisor dopamina puede ser también responsable de producir inhibición tónica de la liberación de TSH, ya que antagonistas de dopamina causan que los niveles de TSH en suero se eleven. Finalmente, los glucocorticoides cuando se encuentran presentes en niveles suprafisiológicos, tienen un efecto parcial de inhibición sobre la secreción de TSH (Morley, J; 1981).

El otro regulador importante de la función tiroidea es el yodo; que es el micronutriente limitante en la síntesis de HT, y cuyo aporte depende exclusivamente

de la dieta. En general, la regulación de este elemento hacia el interior de los tirocitos, parece estar basado en la cantidad de yodo orgánico almacenado en la GT (cita xc: Green, W, 1987). Los efectos de una deficiencia sostenida de yodo, han sido estudiados especialmente por Taurog y colaboradores (Taurog, A; 1991). Esta deficiencia da como resultado: a) decremento en el contenido de yodo tiroideo; b) decremento en la yodación de la TgB; c) incremento en la relación tiroidea T_3/T_4 ; d) decremento en la concentración sérica de T_4 , pero comúnmente sin cambios en la concentración sérica de T_3 ; por lo tanto, e) incremento en la relación T_3/T_4 en suero, f) hipertrofia e hiperplasia de la GT (bocio). Así, la deficiencia de yodo, la cual se acompaña de una disminución en la concentración de HT en suero, estimula al eje HHT, para mantener las concentraciones de HT circulantes "normales" o eutiroideas (Bagchi, N. y Brown, R. T. 1986).

Por otro lado, una ingesta alta y sostenida de yodo, produce una respuesta bifásica de la GT. Inicialmente, en altas concentraciones estimula la función tiroidea, dando como resultado un incremento en su concentración glandular y en la yodación de la TgB; aunado a esto, existe un incremento transitorio de liberación de HT. Esta fase es seguida por una serie de eventos autorregulatorios. El primero de estos es el desarrollo de un bloqueo inducido por su propia organificación, lo cual se conoce como efecto Wolff-Chaikoff (Wolff, J. y Chaikoff, I. L. 1948). En segundo lugar, disminuye el contenido de yodo glandular, lo cual resulta tanto del bloqueo y reducción de su captación glandular, así como, un incremento de "goteo" de yodo en la glándula (Nagataki, S; 1991). La retroalimentación en la hipófisis de los incrementos tempranos en las concentraciones de HT circulantes, inhibe la liberación de TSH y esto a su vez, inhibe la función tiroidea. Este bloqueo es usualmente transitorio, ya que la glándula modifica los parámetros de regulación, para compensar la disponibilidad continua de una alta concentración de yodo. Un mecanismo molecular que parece explicar los efectos producidos por una alta concentración de este oligoelemento, es que la TPO es yodo-sensible (Yamamoto, K. y DeGroot, L. J. 1973), y que el efecto Wolff-Chaikoff se produce por una disminución en la generación o un decremento en la disponibilidad de H_2O_2 en la GT (Chiraseveenupapund, P. y Rosenberg, I. N. 1981).

METABOLISMO DE HORMONAS TIROIDEAS

En el suero de la mayoría de los vertebrados se han encontrado una variedad de productos yodados provenientes del metabolismo extraglandular de las HT. El metabolismo periférico de estas moléculas incluye cuando menos los siguientes procesos: a) la desyodación progresiva de uno o ambos anillos; b) la conjugación de la molécula con sulfato o glucuronato en el grupo hidroxilo; c) la desaminación oxidativa y la descarboxilación de la cadena lateral; y d) la ruptura del grupo éter que une ambos anillos (figura 8) (Valverde-R, C, et al. 1994).

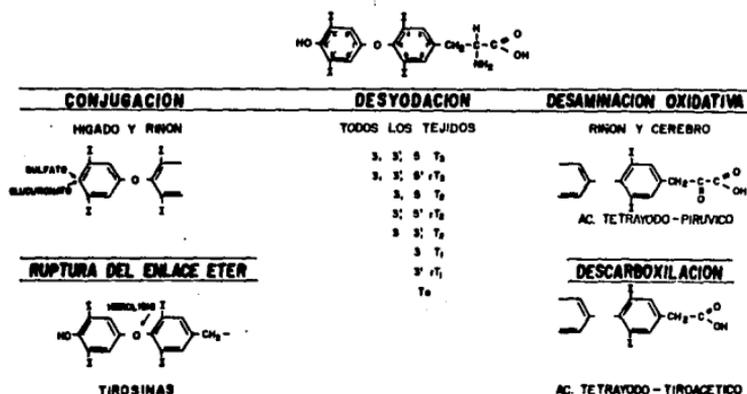


Figura 8: Metabolismo de Hormonas Tiroideas. En esta figura se representan los cinco principales metabolitos periféricos que sufren las hormonas tiroideas, además de indicarse los órganos donde se llevan a cabo preferencialmente.

Conjugación. Tanto el grupo hidroxilo como el grupo amino de las yodotironinas pueden participar en la formación de conjugados sulfatados o glucuronados. La mayor conjugación de la T₄ es la esterificación del hidroxilo fenólico con glucuronato. La T₃ es sustrato preferencial para la conjugación con sulfato (Sekura, R. D. et al. 1981). la conjugación ocurre principalmente en el hígado y el riñón. En el caso del hígado las tironinas conjugadas son secretadas a la bilis, donde son hidrolizadas por la flora intestinal, lo que permite que sean reabsorbidas, economizando de esta manera metabolitos, ya que solamente se excretan por las heces el 20% de las hormonas conjugadas (para revisión vease: Visser, T. J. 1990).

Desaminación oxidativa. Esta vía involucra la remoción secuencial del grupo amino y la descarboxilación de la cadena lateral del anillo fenilo, dando como resultado análogos del ácido acético de las HT; ácido 3, 5, 3', 5'-tetrayodotiroacético (tetrac) y ácido 3, 5, 3'-triyodotiroacético (triac). A estos productos no se les conoce actividad metabólica (para revisión vease Visser, T. J. 1990 y Kohrie, J. et al. 1991).

Ruptura del enlace éter. Es una reacción oxidativa que ocurre especialmente cuando la actividad peroxidasa en los tejidos es estimulada; originando DIT como uno de sus productos (para revisión vease Visser, T. J. 1990 y Kohrie, J. et al. 1991).

Desyodación

La desyodación es el metabolismo predominante de las HT e involucra la remoción de un átomo de yodo, tanto del anillo tirosilo (en la posición bioquímicamente equivalente 3 o 5), o en el anillo fenólico (en la posición 3' o 5'). Aún cuando la tiroxina (T₄) es el producto de secreción principal de la GT, esta tironina exhibe una afinidad relativamente baja por los receptores nucleares para HT; por tanto se le considera como una prohormona. Aunque hasta a la fecha las enzimas que desyodan ambos anillos no han sido purificadas, existen evidencias bioquímicas y fisiológicas que permiten identificar dos vías o rutas metabólicas, y al menos tres diferentes patrones enzimáticos (tabla III).

La desyodación extraglandular de la T_4 provee al compartimiento vascular con el 70 a 80% de la T_3 y prácticamente con el total de la rT_3 circulantes. Actualmente se reconoce que la magnitud y selectividad de la desyodación periférica de las HT está sujeta a un restricto control que opera de manera órgano-específica, y varía según la especie, sexo y el estado ontogenético y funcional del organismo. La selectividad, velocidad y cuantía de esta desyodación órgano-específica determina, en última instancia, la concentración celular de tironina activa o inactiva regulando así la magnitud de su efecto biológico (Valverde-R, C. *et al.* 1994).

5'-Desyodasa Tipo I

La 5'-desyodasa tipo I (5'D-I) puede catalizar tanto la desyodación 5'- como la 5- (cita: Visser, 1990). Ambos procesos son extremadamente sensibles a la inhibición por propiltiouracilo (PTU) y tioglucosa aúrica (TGA). Su actividad también se modifica por cambios en el aporte energético total y la composición (carbohidratos) de la dieta (Danforth, E. Jr. 1986). La 5'D-I se encuentra en la mayoría de los tejidos incluyendo la GT; sin embargo la concentración de enzima en cada órgano varía grandemente. Los órganos con mayor actividad son el hígado y los riñones, mientras que tejidos como el músculo esquelético, las glándulas salivales, el corazón, el bazo, los pulmones, el intestino, la hipófisis, el cerebro y el tejido adiposo blanco muestran actividades que varían de 0.1 a 5% de las observadas en los riñones y el hígado. Durante la lactancia la 5'D-I disminuye en el hígado y aumenta en la glándula mamaria. En ambos órganos los cambios correlacionan directamente con la intensidad de la lactancia (número de crías) (Aceves, C. y Valverde-R, C; 1989).

La localización subcelular de esta enzima no se conoce claramente. La 5'D-I es una proteína ubicada preferencialmente en la fracción microsomal de todos los órganos estudiados, pero por ejemplo, en el hígado, la actividad 5'-desyodasa copurifica con marcadores enzimáticos del RE; mientras que en los riñones esta misma actividad copurifica con marcadores de la membrana plasmática basolateral (Kohrie, J. *et al.* 1991).

Larsen y col. utilizando una técnica de expresión en oocitos de *Xenopus* lograron clonar la desyodasa tipo I de hígado de rata (Berry, M. J. et al. 1991a.), encontrando que está enzima de 29 KDa contiene una selenocisteína en su sitio activo, lo cual le confiere básicamente sus propiedades bioquímicas (Berry, M. J. et al. 1991b.).

La 5'D-I requiere de tioles reducidos como cofactores, exhiba una preferencia mayor por rT_3 que por T_4 como sustrato; mostrando una K_m aparente en el intervalo micromolar, y sigue un mecanismo de reacción conocido como "ping-pong" (para revisión vease Leonard, J. L. 1990). El papel fisiológico de esta desyodasa es proveer de una fuente circulante de T_3 a los tejidos periféricos. La actividad desyodativa tipo I tanto en el hígado como en los riñones se incrementa en animales hipertiroides y desciende en hipotiroides (Kaplan, M. M. 1986).

5'-Desyodasa Tipo II

El sistema nervioso central, la hipófisis, la placenta, las glándulas mamaria (GM) y la grasa parda (BAT), expresan actividad desyodativa tipo II, la cual cataliza exclusivamente la remoción del I en la posición 5' (cita: Leonard, 1990). Los valores aparentes de K_m para T_4 y rT_3 para la 5'D-II van de 0.5 a 2 nM para T_4 y 1.5 a 10 nM para rT_3 cuando son determinadas a 20mM de ditioneitol (DTT, un cofactor sintético). Por otra parte, utilizando el cociente V_{max}/K_m como un criterio de la eficiencia catalítica la T_4 parece ser el sustrato preferencial (Visser, T. J. et al. 1983).

Al contrario de la desyodasa tipo I, la 5'D-II presenta un patrón cinético de tipo secuencial, el cual es relativamente resistente a los efectos inhibitorios del PTU y la TGA. Sin embargo, la enzima es inhibida por su producto, la T_3 ; o bien por la rT_3 , que es su más potente inhibidor y cuya acción no está mediada por síntesis proteica *de novo* ni por ocupación/competencia de receptores nucleares (Kaplan, M. M. 1986). Aunque existen diferencias según la especie y el órgano estudiado, la regulación de la 5'D-II parece depender primordialmente de factores neuroendócrinos (Leonard, J. L. et al. 1990).

Los estudios realizados por el grupo de Larsen en Boston (Crantz, F. R. et al. 1982 y Silva, J. E. et al. 1978) demostraron que la T_3 unida a los núcleos celulares proviene de dos fuentes: de la circulación y de la desyodación 5' intracelular de T_4 . Estos estudios mostraron que el aporte "local" o intracelular de T_3 contribuye de manera substancial (50 a 80%) en células del cerebro y la hipófisis, siendo esta actividad insensible a la inactivación por PTU. En otras palabras, la 5' D-II cataliza la producción local de T_3 para autoconsumo.

Esta enzima se encuentra ampliamente distribuida en el cerebro de la rata, con niveles de actividad relativamente altos en la corteza cerebral, cerebelo e hipotálamo (Kaplan, M. M. 1986). Estudios en fetos y neonatos de rata y pollo han demostrado que esta desyodasa es esencial para asegurar una concentración adecuada de T_3 en el cerebro durante los períodos críticos del desarrollo (Silva, J. E. y Mathews, P. 1984 y Valverde-R, C. et al; 1994).

Estudios realizados en animales adultos han mostrado que la actividad enzimática tipo II, se incrementa significativamente en órganos que participan en las respuestas agudas de termorregulación, así por ejemplo, la exposición aguda al frío (primeras cuatro horas), aumenta la 5' D-II del hipotálamo, la hipófisis, el BAT y la glándula suprarrenal (Anguiano, B. et al. 1991). Durante la adaptación al frío, la actividad tipo II persiste en BAT, lo cual contribuye significativamente en los niveles de T_3 en ese tejido, induciendo así un incremento en la termogénesis (Bibanco, A. C. y Silva, J. E. 1988).

La desyodasa tipo II también ha sido descrita en diferentes especies tales como en el hígado de peces (Eales, J. G. et al. 1990), y varios tejidos de renacuajos en metamorfosis (Galton, V. A. y Hiebert, A. 1988).

5-Desyodasa Tipo III

Esta enzima desyoda exclusivamente el anillo tirosilo. Su distribución es

prácticamente universal, aunque predomina en el cerebro, la piel y la placenta (Kaplan, M. M. *et al.* 1983; Huang, T-S. *et al.* 1985), además de expresarse en grandes cantidades en varios tejidos fetales de rata, tales como músculo esquelético, intestino, hígado y cerebro (Kaplan, M. M. y Yaskosky, K. A. 1981). El papel fisiológico exacto de esta vía desyodativa es incierto; sin embargo, dado que sus productos; rT_3 formada a partir de la T_4 , y T_2 a partir de la T_3 , poseen poca afinidad por los receptores nucleares a HT y son metabólicamente inactivas, la desyodación tipo III se ha propuesto como una vía de desactivación, que durante el desarrollo permite proteger al cerebro fetal y otros tejidos contra niveles excesivamente altos de HT activas (Valverde-R, C. *et al.* 1994).

Significado Funcional de la Desyodación

El síndrome de eutiroidismo enfermo (SEE) se caracteriza por disminución en los niveles circulantes de T_4 y T_3 , elevación de rT_3 y concentraciones normales de TSH. Originalmente, y como su nombre lo pretende indicar, el síndrome se asoció a una variedad de enfermedades sistémicas no tiroideas, cuyo común denominador era el estado catabólico de los pacientes (Wartofsky, L. y Burman, K. 1982). El SEE es secundario a la concurrencia de varios factores entre los que destacan la reducción de la 5'D-I hepática, así como alteraciones en la distribución y recambio de las HT en el compartimiento vascular, sin que disminuya la biosíntesis glandular de T_4 (Danforth, E. Jr. y Burger, A. G. 1989). Sin embargo, ahora se conoce que el nivel sistémico puede ocurrir un rearrreglo semejante durante algunas situaciones fisiológicas, v.g. periodo fetal, lactación, termorregulación; o bien durante la ingesta de una dieta hipocalórica o ayuno, así como durante la administración de diversas drogas (para revisión véase: Cavallieri, R. R. y Pitt Rivers, R. 1981; Danforth, E. Jr. 1986 y Aceves, C. y Valverde-R, C. 1987). El análisis más profundo del efecto que tiene la dieta y el gasto energético sobre el metabolismo periférico de las tironinas, ha mostrado que la desyodación periférica de las HT solo se modifica cuando se provoca un desbalance en el equilibrio aporte/gasto energético del organismo. A partir de la descripción del SEE, se propuso que los cambios en la actividad desyodativa y el rearrreglo consecuente,

reflejaban la instalación de una respuesta adaptativa protectora cuya estrategia primordial consistía en el ahorro energético sistémico (para revisión vease: Danforth, E. Jr. 1986 y Danforth, E. Jr. y Burger, A. G. 1989).

Desde el punto de vista fisiológico, la noción de que la desyodación permite a prácticamente todas las células del organismo producir y ajustar, de acuerdo a sus necesidades metabólicas, la cantidad de HT activas que ellas requieren; ha permitido comprender como a pesar de su relativa constancia en la circulación, las HT ejercen sus efectos biológicos de manera jerarquizada y compartimentalizada. Esto ha llevado a proponer que la regulación del metabolismo periférico de las HT, forma parte de los mecanismos homeorréticos o de adaptación metabólica del organismo (Aceves, C. *et al.* 1985). La homeorresis; un concepto básico para la fisiología moderna, se refiere concretamente a toda la serie de cambios adaptativos coordinados que se llevan a cabo en el metabolismo de un organismo para soportar un estado fisiológico específico (Bauman, D. E. y Currie, B. 1980). La noción homeorrética incorpora la órgano-especificidad de las desyodasas como parte de la estrategia funcional que permite al organismo jerarquizar y priorizar el gasto energético frente a determinadas demandas fisiológicas. Es decir, la hipótesis homeorrética propone que la desyodación es parte esencial de los mecanismos que regulan la homeostasis aporte/gasto energético del organismo, ya que esta actividad enzimática determina la instalación de los microequilibrios diferenciados y jerarquizados que ocurren durante demandas fisiológicas específicas (Aceves, C. Valverde-R, C. 1987).

GLANDULA MAMARIA

La presencia de glándulas mamarias (GM) en los mamíferos es la característica esencial que los distingue de otros vertebrados. Las GM son glándulas exocrinas cuya principal función es la producción y secreción de leche. Por su relación funcional con la reproducción, se les ha considerado como parte de los órganos reproductivos (Raven, P. H. y Johnson, G. B; 1989).

El periodo de producción láctea, conocido como lactación, posee un significado que va más allá del simple papel nutritivo. La lactación constituye un periodo ontogenético muy importante tanto para la madre como para el neonato. El cuidado materno de la cría es primordial, ya que determina el desarrollo funcional y social óptimo del lactante, mientras que para la madre representa la culminación del periodo reproductor de su especie.

Anatómicamente, las GM siempre se encuentran localizadas por debajo de la piel y externas a la cavidad pectoral y/o abdominal. Morfológicamente, las GM están formadas por dos componentes básicos; parénquima y estroma. El parénquima contiene los componentes funcionales de la glándula; las células secretoras y los sistemas ductales. Aquellos elementos del tejido mamario que no se encuentran incluidos en el parénquima son conocidos colectivamente como estroma; un término que comprende la piel, los vasos sanguíneos y linfáticos, y los tejidos nervioso, adiposo y conectivo (para revisión vease: Mepham, T. B. 1987).

Evolutivamente las GM; cuyo origen embrionario es ectodérmico, provienen de una o más de las glándulas dérmicas que se encuentran distribuidas ampliamente sobre la superficie de los mamíferos. En estos existen tres tipos de glándulas dérmicas exocrinas, que se distinguen por un modo particular de secretar sus productos: a) Las glándulas sebáceas; cuyo proceso secretor de tipo holócrino implica una degeneración celular completa, por lo que componentes nucleares y citoplásmicos son secretados *in toto*, b) las glándulas sudoríparas producen una solución salina, que

al ser secretada no involucra daño celular; lo que se conoce como secreción de tipo écrino, y c) una clase especial de glándula sudorípara; la cual además de sudor produce ferohormonas, presenta secreción de tipo apócrino, intermedio entre los dos tipos antes mencionados (Long, C. A. 1969).

Las células alveolares de la GM secretan sus productos tanto a través de procesos apócrinos como écrinos. Además, su morfología asemeja la de las glándulas sudoríparas, por lo cual, se ha propuesto que las GM provienen evolutivamente de las glándulas sudoríparas apócrinas; o bien, que ambas estructuras evolucionaron a partir de un precursor común (Mepham, T. B. 1967).

Estructura de la Glándula Mamaria

Existe una gran variación interespecie en el número y posición de las GM: v. gr. dos glándulas pectorales; en las mujeres y los elefantes, dos glándulas inguinales; en las cabras y en los cueros, cuatro glándulas inguinales; en la vaca; y más de 12, distribuidas a lo largo de toda la superficie abdominal; en las ratas, gatos y cerdos (Gorbman, A. y Bern, H. A; 1963).

El componente básico del tejido secretor son los alveolos, los cuales están formados por una capa de células epiteliales secretoras de leche, rodeadas por células contráctiles especializadas llamadas células mioepiteliales (figura 8). Los grupos de alveolos vecinos que son drenados por un ducto común constituyen un lóbulo. Los lóbulos adyacentes son separados de otros por una envoltura de tejido conectivo. Cada alveolo es rodeado por capilares que proveen de sangre a las células epiteliales. Existen venillas que drenan el exceso de sangre de cada alveolo y la regresan a la circulación venosa general (para revisión vease: Holmann, K. H. 1974 y Schmidt, G. H. 1971).

Por otra parte, los ductos mamarios se pueden clasificar según el tipo de revestimiento que presentan, el cual varía dependiendo de su localización dentro de

la GM. Los ductos interlobulares, consisten de una membrana basal formada por una monocapa de células epiteliales columnares, cuya superficie externa está rodeada por células mioepiteliales orientadas con su eje más largo paralelo al ducto. Los ductos interlobulares son capaces de producir y secretar leche. Los ductos más largos difieren de los pequeños en que el cuerpo del ducto está formado por dos o más capas de células epiteliales (Hollmann, K. H; 1974).

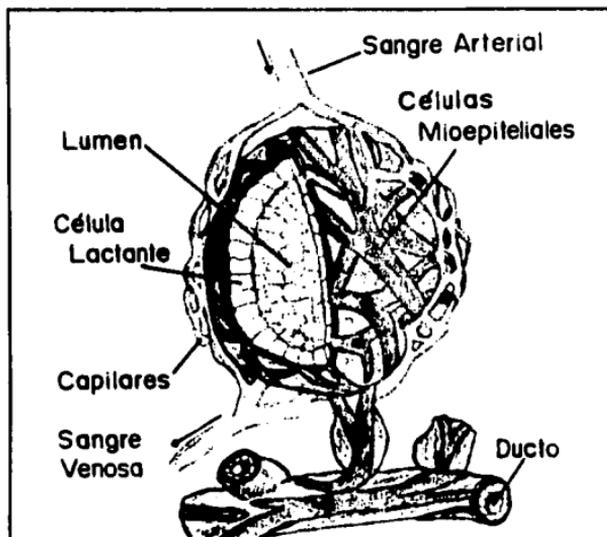


Figura 7: Representación esquemática de un alveolo mamario. Los alveolos mamarios son las unidades anatómicas y funcionales de la glándula mamaria, y están formados por una monocapa de células que rodean a un lumen.

En algunas especies; v. gr. vacas y cabras, los ductos más grandes o galactóforos, vacían la leche en pozos voluminosos; también conocidos como

cisternas, los cuales en una glándula llena pueden almacenar la mitad de la leche que contiene. En otras especies como la rata y el cuyo, los ductos se vacían en un pozo común, en la base de la teta, y ya que su capacidad es pequeña, la mayor parte de la leche producida se localiza en el tejido lóbuloalveolar. En todas estas especies, la leche producida es removida de las glándulas vía un solo orificio en la teta. En contraste, en los conejos y las mujeres, cada uno de los ductos drenan en galactóforos separados que terminan en el pezón, el cual es perforado por varios orificios (Schmidt, G. H. 1971 y Mepham, T. B. 1987).

El tejido contráctil de la glándula mamaria (aparato motor) lo constituyen las células mioepiteliales; las cuales son células de músculo liso, que rodean a los conductos mamarios y a los vasos sanguíneos de la glándula (para revisión véase: Holmann, K. H.; 1974)..

Dado que las GM son estructuras dérmicas, su irrigación sanguínea proviene de las áreas cercanas. Así, en animales con glándulas pectorales, las arterias mamarias son ramificaciones de las arterias torácicas y pectorales, mientras que en aquellos con glándulas inguinales, la irrigación proviene de las arterias pudendas externas. Las mismas consideraciones se pueden hacer para los vasos linfáticos y venosos (Schmidt, G. H. 1971 y Mepham, T. B. 1987).

La innervación de la GM, que también está determinada por su localización, en general comprende dos tipos: a) nervios somáticos sensoriales (aférentes), que transmiten los impulsos nerviosos desde los receptores táctiles en la piel hasta el sistema nervioso central (SNC); y b) nervios motores simpáticos (eferentes), los cuales innervan los vasos sanguíneos y los músculos contráctiles de la teta o el pezón. Estudios hechos en conejo han demostrado la presencia de un tercer tipo de innervación; constituido por mecanorreceptores, que están involucrados en la detección de la cantidad de leche almacenada en la glándula (para revisión véase: Holmann, K. H. 1974 y Mepham, T. B. 1987).

Las tetas o los pezones son una de las áreas más sensibles de la superficie

corporal, debido esto a su extensa inervación por numerosas terminaciones de nervios desmielinizados, situados profundamente en la dermis (Clapp, C. *et al.* 1967). En la mayoría de los mamíferos, las tetas se yerguen durante la succión de la leche por la cría, lo cual parece facilitarle a esta aspirar y retenerla en la boca. La erección de la teta es probablemente una consecuencia de la contracción del músculo liso y obstrucción de los vasos sanguíneos que la rodean, lo cual ocurre en respuesta a la estimulación nerviosa simpática (Grosvenor, C. E. y Mens, F; 1973).

Desarrollo del Tejido Mamario

Embriogénesis y periodo neonatal: Las GM aparecen en la superficie central del embrión como dos líneas sagitales realzadas, que reciben el nombre de líneas o crestas lácteas. Posteriormente, en las zonas que ocuparán las GM en el animal adulto, se forman nódulos celulares de origen ectodérmico, que penetran en la dermis y dan lugar a los brotes o primordios mamarios. El desarrollo posterior de las glándulas, involucra la elongación de estos brotes en cordones celulares. Los cojinetes grasos y demás componentes del estroma se originan de la capa mesenquimatosa que rodea a la GM en desarrollo (para revisión vease: Schmidt, G. H; 1971 y Holman, K. H. 1974).

Generalmente al nacimiento, las GM constan de unos pocos brotes primarios y secundarios, encapsulados en un colchón graso que termina en un diminuto pezón. Esta arquitectura mamaria se mantiene hasta la pubertad (Holman, K. H. 1974).

Periodo puberal: Los primeros 4 ciclos ováricos del animal puberal representan un periodo crítico para el tejido mamario. Durante este lapso, las células ductales que forman los brotes o primordios mamarios se "arrestan" o comprometen, para dar lugar en el embarazo, al tejido alveolar o secretor de leche. Este periodo crítico es el resultado de una compleja interacción endocrina, que depende primordialmente de las siguientes hormonas: estrógenos, HT y prolactina (PRL) (Tooper, Y. y Freeman, J; 1960). Con los subsiguientes ciclos ováricos, el crecimiento mamario es solo de tipo

ductal y ocurre en la fase folicular. Durante la fase lútea, el tejido mamario sufre regresiones regresiones, por lo que la ganancia neta de crecimiento es muy pequeña. Este crecimiento ductal depende fundamentalmente de la secreción estrogénica del ciclo estral. Así, la GM en las hembras adultas; pero vírgenes, permanece como un sistema de ductos con primordios mamaros rodeados de tejido adiposo (para revisión vease: Holman, K. H; 1974 y Tooper, Y. y Freeman, J; 1980).

Diferenciación Celular y Funcional del Tejido Alveolar.

La diferenciación del epitelio alveolar y la funcionalidad subsecuente de este tejido secretor, se lleva a cabo a partir del embarazo y se ha dividido para su estudio en tres períodos: la mamogénesis o periodo de crecimiento y diferenciación celular; la lactogénesis o periodo de síntesis enzimática y preparación metabólica y la lactación o periodo de síntesis y evacuación láctea (para revisión vease: Tucker, H. A; 1988). A continuación se describen los principales eventos celulares que ocurren en cada periodo y en las tablas IV, V y VI se resumen las principales señales endocrinas que las detreminan.

Mamogénesis: abarca los dos primeros tercios de la gestación y se caracteriza por una rápida proliferación del árbol ductal, así como del desarrollo del aparato lóbulo-alveolar. Las células secretoras se arreglan en lóbulos al rededor de los ductos mayores y se diferencian citológicamente como células secretoras. En esta etapa, los estrógenos; junto con la progesterona y el lactógeno placentario son los principales reguladores (McGrath, M; 1985 y Voogt, J. L; 1991).

Lactogénesis: esta etapa se inicia en el tercer tercio de la gestación y se caracteriza por ser el periodo en que la célula alveolar ya diferenciada, sintetiza toda su maquinaria metabólica necesaria para la producción láctea. Conforme se aproxima el final de la gestación, los niveles de progesterona disminuyen y comienza a secretarse PRL y glucocorticoides. Estos cambios hormonales se acompañan de síntesis incipiente de proteínas y ácidos grasos específicos de la leche, en las células

alveolares (Clapp, C. *et al.* 1987 y Tucker, H. A; 1988).

Lactación: este es el último periodo y comienza justo después del parto. La succión, así como los estímulos esteroceptivos de la cría (olor, llanto, etc.) son los principales factores que controlan el inicio, la estabilización e incluso el decaimiento de la síntesis y evacuación láctea.

La succión es un mecanismo neuroendocrino complejo que permite por una lado, que la leche sintetizada y almacenada en las células alveolares o en las sistemas sea evacuada, y por el otro, que se liberen mensajeros que estimulan la síntesis de más leche (Clapp, C. *et al.* 1987).

El reflejo de la succión puede dividirse en dos vías: a) la aferente y de naturaleza nerviosa y b) la eferente, con componentes neuroendocrinos. La vía aferente se activa por la estimulación de receptores sensoriales ubicados en el pezón y en algunas zonas del parenquima mamario. La succión genera impulsos nerviosos que se propagan al sistema nervioso central y desembocan en el hipotálamo y en las glándulas adrenales. La vía eferente comprende la liberación hipofisaria del complejo galactopoyético, así como la activación del sistema simpatoadrenal, que incluye tanto la liberación por parte de las glándulas suprarrenales de adrenalina (A) y noradrenalina (NA) a la circulación, como de NA en las terminaciones nerviosas que inervan a la propia GM (Clapp, C. *et al.* 1987; Tucker, H. A; 1988 y Wakerley, J. B. *et al.* 1988).

Aunque el mecanismo básico de la succión se mantiene durante toda la lactancia, se conoce que la respuesta neuroendocrina que se desencadena, puede modificarse por otra serie de señales que involucran la relación madre-cría. Efectivamente, se ha demostrado que el olor, el llanto y el tipo de succión que tienen las crías durante su desarrollo se va modificando y con ello genera señales específicas que permiten iniciar, mantener y terminar con la producción de leche (Grosvenor, C. E. y Mena, F. 1973). A este tipo de señales se les conoce como mecanismos exteroceptivos y dependiendo de la etapa en que se instalan dividen a la

lactancia en tres etapas (Clapp, C. et al. 1987):

Galactotrofia: para designar la fase temprana del ciclo, en donde el predominio de acciones estimuladoras de la succión favorecen el incremento progresivo en la producción de leche.

Galactostasia: para designar la fase intermedia o de mantenimiento en donde las influencias estimuladoras e inhibitoras de la succión se equilibran y mantienen en una meseta la producción de leche.

Galactolisis: para designar a la fase de cese de la lactancia, en donde los mecanismos inhibitoras de la succión predominan y declina paulatinamente la producción láctea.

Aunque los mecanismos neuroendocrinos que median estas respuestas hasta la fecha no están bien determinados, se ha propuesto que la interacción PRL-catecolaminas juega un papel crucial (Grosvenor, C. E. y Mena, F; 1973). Así, mientras que la PRL genera en la célula alveolar estímulos que incrementan la producción láctea y mantienen unidas entre sí a las células alveolares, las catecolaminas ejercen efectos antagónicos, modificando el flujo sanguíneo, o bien bloqueando o disminuyendo los efectos generados por la PRL (cita xc: Hebb, C. O. Linzell, J. L; 1951 y Grosvenor, C. E. et al. 1979).

Hormona	Animal	Principal Efecto
ESTROGENOS	Hombre, rata, ratón, conejo, rumiantes	Crecimiento y diferenciación del árbol ductal. Permisivo con P ₄ y LP en la diferenciación lóbulo-alveolar
PROGESTERONA	Hombre, rata, ratón, conejo, rumiantes	Crecimiento y diferenciación lóbulo-alveolar
LACTOGENO PLACENTARIO	Hombre, conejo, yegua, rumiantes	Sinergiza P ₄ y E ₂ en el crecimiento y diferenciación lóbulo- alveolar
GLUCOCORTICOIDES	Hombre, rata, ratón, conejo, rumiantes	Permisivo con E ₂ sobre la diferenciación del árbol ductal. Sinergizan P ₄ y LP en el desarrollo lóbulo-alveolar
HORMONAS TIROIDEAS	Hombre, rata, ratón, conejo, rumiantes	Permisivo con E ₂ sobre la diferenciación del árbol ductal. Sinergizan P ₄ , LP y glucocorticoides en el desarrollo lóbulo-alveolar

Tabla IV: Regulación Endocrina de la Mamogénesis. P₄, progesterona; LP, lactógeno placentario; E₂, estrógenos. Tomado de Aceves, C. et al. 1987.

Hormona	Animal	Principal Efecto
ESTROGENOS	Hombre, rata, ratón, conejo, rumiantes	Sinergizan y facilitan la diferenciación citológica y enzimática por la PRL
PROLACTINA	Hombre, rata, ratón, conejo, rumiantes	Establecimiento de la síntesis de leche. Turgencia y composición iónica de la leche
HORMONA DE CRECIMIENTO	Hombre, conejo, yegua, rumiantes,	Sinergiza la acción de PRL y glucocorticoides sobre la síntesis enzimática
GLUCOCORTICOIDES	Hombre, rata, ratón, conejo, rumiantes	Facilitan la síntesis enzimática alveolar provocada por la PRL y GH
HORMONAS TIROIDEAS	Hombre, rata, ratón, conejo, rumiantes	Sinergizan la actividad y síntesis enzimática provocada por GH y PRL. Facilitan la síntesis y liberación hipofisaria de GH

Tabla V: Regulación Endocrina de la Lactogénesis. PRL, prolactina; GH, hormona de crecimiento. Tomado de Aceves, C. et al. 1987.

Hormona	Animal	Principal Efecto
PROLACTINA	Hombre, rata, ratón, conejo, rumiantes	Establecimiento y mantenimiento de la producción láctea
HORMONA DE CRECIMIENTO	Hombre, rata, ratón, conejo, rumiantes	Mantenimiento de la cantidad y tipo de lípidos, y proteínas de la leche. Mantenimiento de la producción láctea
GLUCOCORTICOIDES	Hombre, conejo, yegua, rumiantes,	Facilitan el mantenimiento de la producción láctea y acción de la oxitocina. Controlan y regulan la concentración de Ca^{++} y K^+ en la leche
HORMONAS TIROIDEAS	Hombre, rata, ratón, conejo, rumiantes	Facilitan la síntesis de los principales componentes de la leche y el mantenimiento de la producción
OXITOCINA	Hombre, rata, ratón, conejo, rumiantes	Evacuación de la leche de los alvéolos a los senos lactíferos o cisternas de la glándula mamaria
CATECOLAMINAS	Rata, cabra, conejo	Inhibición de la síntesis y la evacuación láctea durante la lactancia tardía

Tabla VI: Regulación Endocrina de la Lactación. Ca^{++} , calcio; K^+ , potasio.

Tomado de Aceves, C. *et al.* 1987.

ANTECEDENTES ESPECIFICOS

En 1878, Claude Bernard postuló un principio fundamental para la fisiología, que a la postre se convertiría en el principio motor de esta ciencia: " todos los mecanismos vitales, con ser variados, solo tienen un objeto: el de mantener constantes las condiciones del medio interno" (Bernard, C. 1994).

Esta base integrativa del pensamiento fisiológico propuesta por Bernard, fue retomada posteriormente por otros científicos como L. J. Henderson, Sir J. Barcroft y muy especialmente por Walter B. Cannon, quien introduce el término *homeostasis* para referir "...los mecanismos fisiológicos con los cuales el animal mantiene un equilibrio dinámico entre su medio interno y las constantes fluctuaciones del medio que lo rodea" (Cannon, W. B. 1941). La naturaleza de estos mecanismos se ha propuesto que es de naturaleza neuroendócrina y que están determinados genéticamente (para revisión vease: Mason, M. D; 1968; Hardy, R. N. 1979).

Además de los mecanismos generales de control y regulación del organismo o mecanismos homeostáticos, existen otros mecanismos no generalizados que permiten al animal alcanzar un nuevo equilibrio dinámico cuando se encuentra en un estado de estrés crónico moderado. Estos mecanismos se instalan tanto en respuesta a demandas externas; *v gr.* condiciones ambientales desfavorables, así como a demandas funcionales internas; *v gr.* crecimiento, reproducción, gestación, lactancia, etc. (para revisión vease: Stevenson, J. A; 1967; Kennedy, G. C. 1967; y Bauman, D. y Currie, W. 1980).

Al conjunto o manifestación de estos mecanismos se les conoce como respuestas homeorréticas o de adaptación metabólica, y se caracterizan como cambios en el flujo o dirección de la energía disponible por el organismo, la cual es redistribuida hacia funciones prioritarias en un momento específico. Así, la homeorresis se ha definido como "los cambios metabólicos coordinados que ocurren en los tejidos del organismo para mantener un estado fisiológico específico y

prioritario" (Bauman, D. et al. 1982). La instalación final de estos procesos fisiológicos metabólico-adaptativos, depende en gran medida del periodo ontogenético por el cual transcurre el organismo, así como de la naturaleza, magnitud y duración del estímulo (Kennedy, G. C. 1967).

La GM lactante es uno de los tejidos más altamente metabólicos del organismo. Con el inicio de la lactación, la repartición de nutrimentos y el metabolismo general del organismo sufren una serie de alteraciones que permiten satisfacer las demandas energéticas de la GM. Así, en prácticamente todos los mamíferos el balance energético del organismo tiene una relación inversa con la producción de leche, mostrando un balance energético negativo durante el pico de lactación (Tucker, H. A. 1988). Esta serie de ajustes metabólico-adaptativos u homeorréticos que ocurren durante la lactancia inciden principalmente a dos niveles:

- 1) Regulando el metabolismo general del organismo, disminuyendo la utilización de sustratos por tejidos que no sean esenciales para la lactación; *v gr.* músculo, piel, huesos, etc., y promoviendo la movilización de las reservas energéticas hacia la GM.
- 2) Regulando directamente el metabolismo de la GM: estimulando por un lado, los sistemas de transporte celular (aumento en número y afinidad de receptores, bombas y transportadores celulares específicos) y por el otro, incrementando su gasto energético.

Entre los mecanismos homeorréticos sistémicos más importantes que se establecen durante la lactancia, se encuentran los cambios sufridos en el metabolismo de lípidos y glucosa, los cuales son las principales fuentes energéticas del organismo. Las reservas de lípidos, almacenados principalmente como triglicéridos en los adipocitos, sufren una movilización casi total. En contraste, la actividad de la lipoproteína lipasa mamaria se incrementa significativamente, facilitando la entrada de ácidos grasos en las células alveolares (Mephram, T. B. 1987).

Por lo que respecta al metabolismo de glucosa, los almacenes de glucógeno hepático son movilizados en la lactación temprana, y aproximadamente el 85% del flujo total de glucosa es absorbido por la GM. En el hígado se incrementa tanto el nivel de gluconeogénesis como el de glucogenólisis. A nivel sistémico y dada la hipoinsulinemia moderada, disminuye en la mayoría de los órganos el uso de glucosa y se incrementa el uso de lípidos como fuente energética (Baird, G. D. 1981 y Bauman, D. E. y Currie, B. 1980).

Aunado a lo anterior las reservas de proteínas lábiles del músculo y otros tejidos, así como los almacenes de Ca^{2+} y fosfatos inorgánicos del esqueleto materno también son movilizados y dirigidos hacia la GM. Igualmente, aumentan la absorción intestinal y la depuración renal de Na^+ , K^+ , Cl^- y agua (Mephram, T. B. 1987 y Bauman, D. E. y Currie, B. 1980).

Los cambios descritos anteriormente, tienen como principal finalidad incrementar el flujo de sustratos en el torrente sanguíneo, lo cual no asegura que estos sustratos alcancen la GM. Un elemento necesario para la repartición de nutrimentos, es la distribución selectiva de esos sustratos a los órganos específicos; notablemente hacia la GM, debido a cambios en el sistema cardiovascular. Harwell y Linzell (Harwell, A. y Linzell, J. L. 1973) han mostrado que no solo la GM, sino también órganos involucrados en la absorción y metabolismo de nutrimentos, tales como el tracto gastrointestinal y el hígado, reciben un flujo sanguíneo superior a lo ordinario. Este incremento en el flujo sanguíneo es consecuencia de un mayor gasto cardíaco, y parcialmente por vasodilatación y/o incrementos en el tamaño del órgano (Mephram, T. B. 1987).

Específicamente, en la GM el número y afinidad de receptores a diferentes hormonas; *v gr.* insulina, catecolaminas, PRL, etc; así como el transporte de glucosa, lípidos y aminoácidos se incrementa significativamente. De la misma manera y mediante el aumento en el transporte de tiroxina y su posterior desyodación dentro de la GM, las HT incrementan el metabolismo energético de las células alveolares (Aceves, C. y Velveverde-R, C; 1989). Aunado esto a la elevada tasa de división celular y

a la hipertrofia de los organelos celulares involucrados en la síntesis y secreción de metabolitos, la GM lactante es un órgano que sufre una compleja e intrincada serie de reajustes metabólicos, que le confieren la capacidad de desempeñar una función fisiológica de suma importancia para la especie.

Vistos integralmente, todos estos ajustes permiten entender como, a pesar de tener conductual y fisiológicamente un incremento en la ingesta dietética, el animal lactando se mantiene en catabolismo y compartamentaliza su gasto energético hacia la producción láctea. Aunque hasta la fecha no se conocen los mecanismos que regulan dichos ajustes homeorréticos, en trabajos previos hemos mostrado que la desyodación órgano-específica de las tironinas pudiera participar en dichos ajustes. Efectivamente, se ha mostrado que asociado al bajo nivel circulante de T_3 que caracteriza a la lactancia, existen arreglos órgano-específicos de las vías desyodativas. Así, se ha mostrado que en la madre lactando, la desyodación 5' (generadora de T_3) se encuentra significativamente disminuida en el hígado y el BAT, mientras que exhibe una elevada actividad en la GM (Giralt, M. et al. 1987 y Aceves, C. y Valverde-R, C. 1987). Además, se ha mostrado que dichos ajustes están regulados de manera integral, ya que estimulantes específicos descritos para las desyodasas del hígado y BAT en otras condiciones fisiológicas, son incapaces de modificarlas; *v gr.* hiperfagia, exposición al frío, sobrealimentación con carbohidratos, administración de NA (Aceves, C. et al. 1994 a).

En la lactancia, los niveles circulantes de las dos tironinas bioactivas, T_4 y T_3 , son inversamente proporcionales a la producción láctea. Estudios realizados por Aceves y col. (Aceves, C. et al. 1985) han mostrado que este comportamiento se asemeja al síndrome de eutiroidismo enfermo y que es resultado de un arreglo órgano-específico. Así, se ha descrito que: a) la disminución de T_4 y T_3 se acompaña de un incremento significativo de la rT_3 circulante; b) la 5'D-I hepática decrece (40%) y correlaciona significativamente con la disminución de la T_3 ; c) simultáneamente se detecta actividad 5'D-I en la GM que incrementa proporcionalmente con la producción láctea (pico de lactación y número de crías) (Aceves, C. et al. 1985; Aceves, C. y

Valverde-R, C. 1989, Aceves, C. et al. 1995) y d) estudios recientes han revelado que la suplementación con carbohidratos modifica transitoriamente el balance energético, los ajustes enzimáticos regionales y el perfil hormonal sistémico. Sin embargo, al cabo de 72 horas dicha suplementación energética es integrada a la estrategia metabólica de lactación, reinstalándose los ajustes enzimáticos previos, a la vez que se incrementa significativamente la producción láctea (Aceves, C. et al. 1994).

El análisis específico de la desyodación mamaria ha mostrado que la rata exhibe actividad enzimática 5'D-I, y 5'D-II. Se ha caracterizado ontogenéticamente la actividad desyodativa de la GM, observándose que a lo largo del desarrollo mamario se encuentra presente una actividad 5'D-II basal (entre 0.5 a 1 pmol I¹²⁵ / mg prot / hora), mientras que la actividad tipo I se instala 24 horas después del parto, incrementándose rápidamente y mostrando una curva de actividad enzimática paralela a la producción láctea. Aunado a lo anterior, hemos demostrado de manera indirecta que la actividad 5'D-I se encuentra solo en el tejido alveolar y no en el tejido adiposo o cojinetes grasos de la glándula (Aceves, C. et al. 1995).

Por último, y como se observa en la figura 8, en el laboratorio se realizaron experimentos donde se demostró que dicha actividad depende directamente del estímulo de la succión. Así, si se retira el estímulo a diferentes intervalos, podemos observar que la actividad enzimática disminuye proporcionalmente a la falta de estímulo, siendo irreversible su recuperación si este periodo se prolonga por más de 16 o 18 horas.

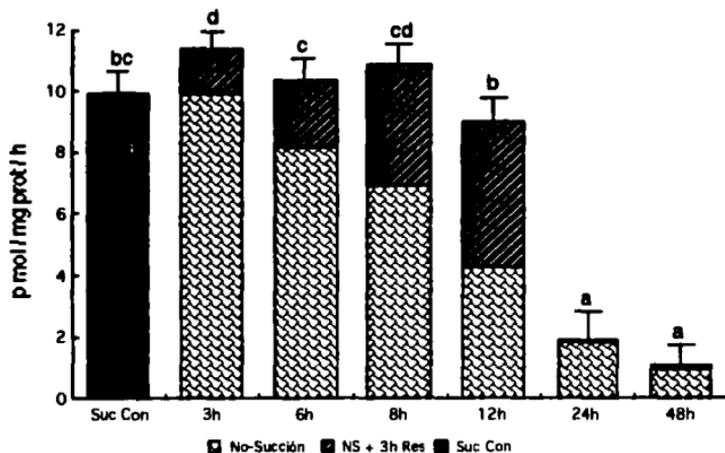


Figura 8: Efecto de la no succión y resucción en la actividad 5'D mamaria. La barra negra representa el valor de la enzima en glándulas de madres con succión continua. Las barras con la trama clara representan el efecto de no succión después de retirar a las crías por 3, 6, 8, 12, 24 y 48 horas. Las barras con la trama oscura representan el efecto de resucción por 3 horas aplicado a ratas con diferentes periodos de no succión. Se observa que intervalos de no succión mayores a 8 horas se acompañan de decrementos significativos en la actividad 5'D mamaria. Se muestra además que un periodo de 3 horas de resucción (barras asuradas) es capaz de recuperar la actividad enzimática en ratas hasta con 12 horas de no succión.

HIPOTESIS

De esta manera y con base en el marco teórico descrito anteriormente, el presente trabajo se diseñó para analizar el efecto que ejercen algunas hormonas del complejo galactopoyético sobre el restablecimiento de la actividad enzimática 5'D mamaria dependiente de la succión. Así, si en dicho restablecimiento participan de manera individual algunas de las hormonas que se liberan con la succión, la aplicación exógena de cantidades fisiológicas de estas hormonas mimetizarán el efecto estimulante de la succión.

OBJETIVOS

- Analizar el efecto de prolactina, hormona de crecimiento, adrenalina, noradrenalina y oxitocina sobre la actividad 5'D mamaria.
- Analizar el tipo de receptor que media la estimulación de adrenalina y noradrenalina.

MATERIAL Y METODOS

Animales

Se utilizaron ratas hembras cepa "Wistar" primíparas con diez días de lactación y 8 a 10 crías por camada. Los animales recibieron alimento (Purina) y agua *ad libitum* y se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura (22° - 26°C) y de luz-oscuridad (12:12).

Todos los animales se sacrificaron por decapitación, tomándose una muestra de 0.5 a 1g de las glándulas mamarias inguinales derecha e izquierda. Los tejidos se congelaron inmediatamente a -70°C hasta el momento de la determinación de la actividad 5'-desyodasa (5' D-I).

Actividad 5'-desyodasa (5'D)

La actividad 5'D se cuantificó por la técnica de liberación de radio-yodo previamente estandarizada en el laboratorio (Leonard, J. L. y Rosenberg, I. N. 1980 y Aceves, C. y Valverde-R, C. 1989). Esta técnica evalúa la actividad enzimática, cuantificando el producto primario de su reacción; el yodo (¹²⁵I) liberado. A continuación se describen los aspectos más relevantes de la técnica:

a) Preparación de los tejidos. Los tejidos de cada animal se homogeneizaron individualmente en frío utilizando una proporción 1:10 peso/volumen de amortiguador HEPES (10 mM, 1mM EDTA; sacarosa 0.32 M, pH 7). Se utilizó un homogenizador Brinkmann.

- Las muestras homogenizadas se centrifugan a 3000 rpm, 10 min a 4°C.
- Se toma el sobrenadante, sin mezclar con la grasa y se hacen alícuotas de 500µl.

- Las muestras se congelan inmediatamente con acetona y hielo seco (aprox. -80°C) y se guardan congeladas a -70°C .

b) Purificación de la hormona. Para tener la certeza de que el yodo liberado y cuantificado es producto de la acción de la 5'D y no de la auto-radiólisis de la hormona, es necesario disponer de un sustrato radioactivo (hormona radiactiva) lo suficientemente "puro" (libre de contaminantes). En este caso sólo utilizamos hormona radiactiva cuya proporción de yodo libre es $<0.5\%$. Por esta razón purificamos la hormona mediante cromatografía de intercambio iónico, utilizando columnas de Sep-Pack C-18.

c) Cuantificación de la actividad 5'D. Se toman $50\mu\text{l}$ del homogenizado (~ 200 a $300\mu\text{g}$ de proteína) y se incuban con una mezcla radiactiva ($100\mu\text{l}$) que contiene 100 fmol de $^{125}\text{I-T}_3$ (NEN, $1100\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$) más $0.5\mu\text{M}$ de T_3 no radiactiva como sustrato y 20 mM de DTT (Dithiothreitol, Calbiochem, Co.) como cofactor. La incubación se lleva a cabo a 37°C durante 3 h. Transcurrido este tiempo la reacción se detiene adicionando a la mezcla de incubación $50\mu\text{l}$ de suero normal bovino y $350\mu\text{l}$ de ácido tricloroacético al 10% . Las muestras se centrifugan 10 min a 3000 rpm. El sobrenadante se pasa a través de una resina de intercambio catiónico (Dowex 50W-X2, Bio Rad) activada con 2 ml de ácido acético (Merck) al 10% . La columna se lava con 2 ml de ácido acético al 10% . El yodo liberado que va en el eluido se cuenta durante 1 min en un espectrómetro de emisiones gamma.

Como controles intraensayo se prepararon 4 tubos a los que no se les añadió el homogeneizado y que se procesaron exactamente igual que los problemas. El valor obtenido en estos tubos representa la desyodación inespecífica y se resta al valor de cada muestra. Los resultados de la actividad enzimática se calculan de acuerdo al procedimiento descrito por Pazos Moura (Pazos-Moura, C. *et al.* 1991) y se expresan como pmol de yodo liberado/ mg proteína/ hora.

d) Cuantificación de Proteínas. Las proteínas se cuantificaron por el método de

Bradford (Bradford, M. M; 1976). Se utilizó el reactivo de Bio Rad (Protein assay) y BSA en la curva standar.

Análisis Estadístico

Los resultados se expresan como la media (\bar{x}) \pm error estándar (e. e.). Para la comparación inter e intragrupos se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de una (unifactorial) y dos vías (bifactorial) respectivamente. Después se utilizó una prueba de comparación múltiple (Prueba de Tucker). Diferencias con una $p < 0.05$ fueron consideradas estadísticamente significativas. Los análisis estadísticos se realizaron con la ayuda de un paquete estadístico (Statgraphics, Statistical Graphics Sistem. Versión 2.6).

Protocolos Experimentales:

En ensayos previos mostramos que la succión es el principal estímulo para mantener la actividad 5'D-I mamaria y que 12 horas de no succión (12h NS) es un modelo ideal para mostrar el efecto de las diferentes hormonas galactopoyéticas. En este trabajo se utilizaron protocolos de experimentación con los siguientes objetivos:

1) Estandarizar en ratas con 12h NS, el tiempo de resucción necesario; así como el periodo en el que se obtiene la máxima estimulación de la 5'D mamaria.

Para este objetivo se utilizaron tres protocolos:

- a) En ratas con 12h NS, se les regresaron sus crías y se sacrificaron 1, 2, 3, 4, 6 y 8 horas postsucción.
- b) En ratas con 12h NS, se les regresaron sus crías, se les dejó succionar 15 minutos, se retiraron las crías y las madres se sacrificaron 1, 2, 3, 4, 6 y 8 después de iniciarse la resucción.

c) En ratas con 12h NS, se administró 200 µl de agua destilada y se sacrificaron 1, 2, 3 y 4 horas postinyección. En este protocolo los animales se anestesiaron 5 minutos antes del sacrificio con uretano al 10% y se obtuvo la leche acumulada mediante la administración de 300 mU de oxitocina (OT).

2) Analizar la participación de diferentes hormonas que se liberan durante la succión.

En ratas con 12 h de no succión (12 h NS) se administró una sola dosis de las siguientes hormonas, por la vía indicada:

- A 10µg / 200µl de agua destilada / Subcutánea
- NA 10µg / 200µl de agua destilada / Subcutánea
- PRL 300µg / 200µl de agua destilada / Subcutánea
- NA/PRL 10µg; 300µg / 200 µl de agua destilada / Subcutánea
- GH 300µg / 200µl de agua destilada / Subcutánea
- OT 300mU / 200µl de agua destilada / Intraperitoneal

Los animales se anestesiaron con 2 ml de uretano al 10%, y unos minutos antes de obtener los tejidos, se les inyectó 300 mU de Oxitocina, vaciando de esta manera las glándulas de leche. Los animales se sacrificaron 1, 2, 3 y 4 h después de la administración hormonal. Como grupos controles, en cada experimento se obtuvo tejido de animales con succión continua (SC); una rata diferente cada hora, y animales 12 h NS inyectados con 200 µl de solución salina.

3) Analizar el efecto del bloqueo específico de algunas hormonas endógenas que se liberan con la succión. Para este propósito se utilizaron antagonistas o bloqueadores de la liberación de A, NA y PRL. A animales con 12h NS se les inyectó una dosis única de los siguientes fármacos: fentolamina (antagonista general α -adrenérgico), propranolol (antagonista general β -adrenérgico) y bromocriptina (bloqueador de la

liberación de PRL). Media hora después de la inyección, las crías fueron regresadas a sus madres. Estas últimas fueron sacrificadas a las 1, 2, 3 y 4 horas de resucción.

4) Analizar el o los receptores adrenérgicos que median la estimulación con catecolaminas.

- Para NA se realizó una curva dosis respuesta de 10 a 80 ng, así como la inyección combinada de NA con bloqueadores específicos α y β adrenérgicos.
- Para A se realizó una curva dosis respuesta de 10 a 80 ng, así como la inyección combinada de A con bloqueadores específicos α y β adrenérgicos.
- Para confirmar la participación de receptores β , se utilizó el agente agonista isoproterenol.

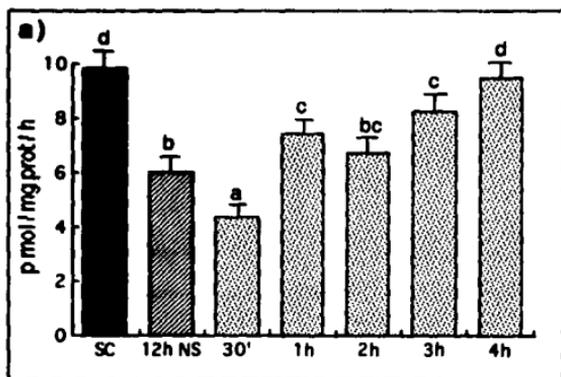
Las concentraciones y vías de administración usadas fueron las siguientes:

- A/Fen 10 μ g + 100 μ g / 200 μ l de agua destilada / Subcutánea
- A/Pro 10 μ g + 100 μ g / 200 μ l de agua destilada / Subcutánea
- NA/Fen 10 μ g + 100 μ g / 200 μ l de agua destilada / Subcutánea
- NA/Pro 10 μ g + 100 μ g / 200 μ l de agua destilada / Subcutánea
- Iso 100 μ g / 200 μ l de agua destilada / Intraperitoneal

Para todos los casos se utilizaron ratas con 12 h NS, a las cuales se les administró una dosis única. Los animales se durmieron con 2 ml de uretano al 10%, y unos minutos antes de obtener los tejidos, se les inyectó 300 mU de OT, vaciando de esta manera las glándulas de leche. Los animales se sacrificaron 1, 2, 3 y 4 h después de la administración hormonal. En cada hora se obtuvo tejido de animales con succión continua (SC) y animales 12 h NS inyectados con 200 μ l de solución salina como controles.

RESULTADOS

Estandarización de tiempos de resucción y de respuesta enzimática: La figura 9 muestra los resultados obtenidos al exponer a ratas con 12h NS a: a) resucción continua, b) resucción 15 minutos y c) inyección de solución salina. Se observa que la resucción incrementa significativamente la actividad 5'D mamaria desde la primera hora. El incremento más significativo se observa a las 4 horas, alcanzando en magnitud a los valores mostrados por GM con succión continua. En el panel B se muestra que el patrón de recuperación de la actividad 5'D mamaria por resucción también se instala en ratas que fueron succionadas por solo 15 minutos. El panel C muestra que la manipulación y la inyección de solución salina no modifica la actividad 5'D mamaria.



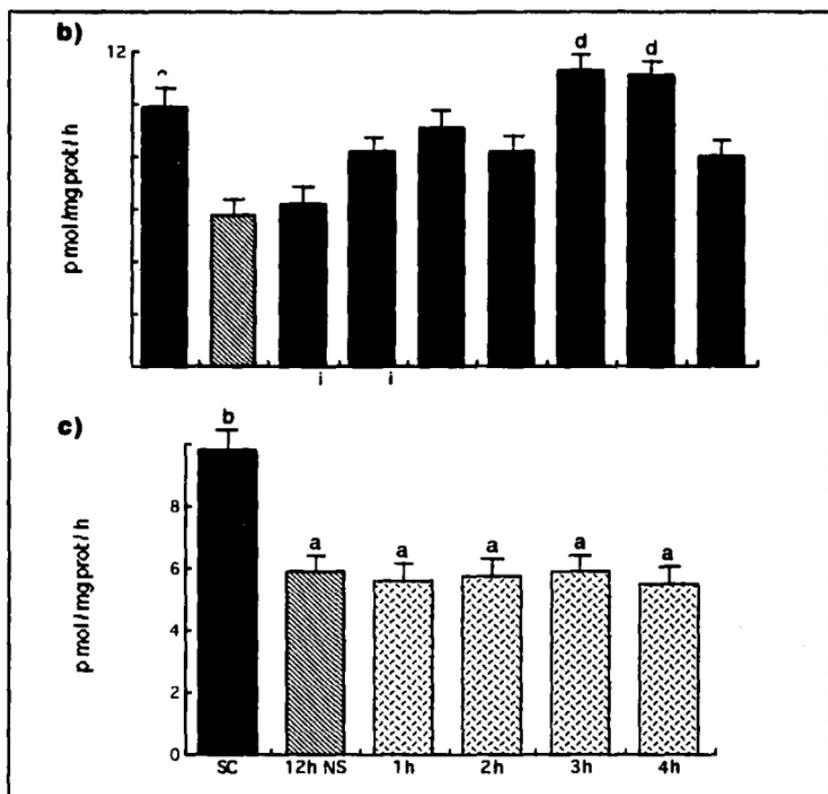


Figura 9: Curso temporal del efecto de succión continua (panel A), succión de 15 minutos (panel B) y de inyección con solución salina (panel C), sobre la actividad 5'D mamaria en ratas con 12 horas de no succión. Letras distintas arriba de las barras indican grupos estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). Suc Con, succión continua; 12h No Suc, 12 horas de no succión.

Efecto de algunas hormonas galactopoyéticas: El efecto producido por las dos principales catecolaminas; A y NA, se muestra en la figura 10. La A estimula la actividad enzimática de manera rápida (30 minutos) y transitoria (2 horas), mientras que la NA lo hace de manera tardía (4 horas). En ambos casos, el incremento de la actividad desyodativa alcanza valores superiores a los obtenidos para el grupo de succión continua ($p < 0.05$), y que en el caso de la NA prácticamente los duplica.

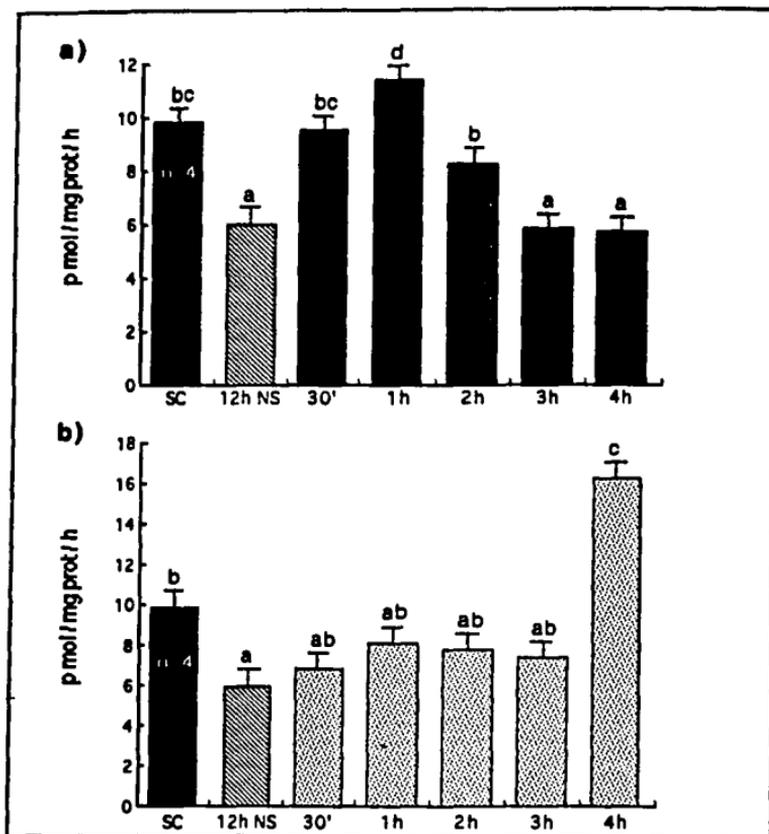


Figura 10: Efecto de a) adrenalina (10µg) y b) noradrenalina (10µg) sobre la actividad 5'D-I mamaria, en ratas lactantes primíparas con 10 días de lactación. En todos los casos el No. de animales utilizados fué 4 (n=4). Las letras semejantes arriba de las barras indican grupos estadísticamente equivalentes ($p < 0.05$). Suc Con, succión continua y 12h No Suc, 12 horas de no succión.

La figura 11 muestra el efecto producido por la PRL sola y en combinación con la NA. La PRL exhibe un efecto estimulante discreto, el cual, a pesar de ser significativo a partir de las 2 horas, no alcanza los valores obtenidos por el grupo de succión continua. En contraste, la administración combinada de PRL / NA modifica las respuestas obtenidas en la 5'D, cuando las hormonas se administran en forma separada. La combinación muestra un curso temporal muy parecido al obtenido por el estímulo natural de la succión (vease figura 1.a).

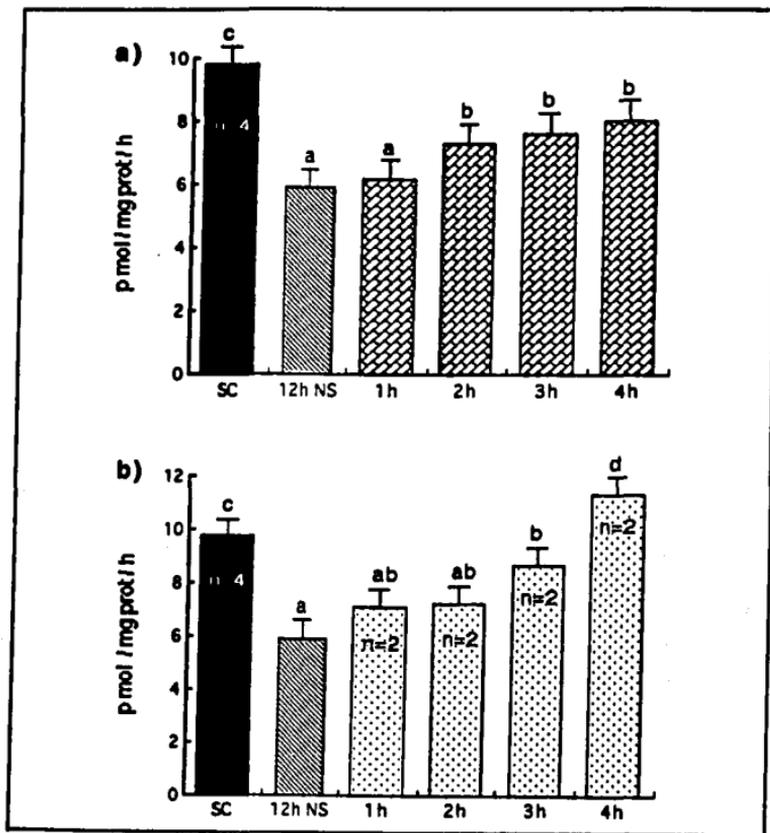


Figura 11: Efecto de a) noradrenalina y b) noradrenalina / prolactina sobre la actividad 5'D-I mamaria, en ratas lactantes primíparas con 10 días de lactación. Las letras arriba de las barras indican grupos estadísticamente equivalentes ($p < 0.05$). SC, succión continua; 12h NS, 12 horas de no succión y n=, número de animales utilizados.

La figura 12 muestra el efecto de la oxitocina y la hormona de crecimiento sobre la actividad 5'D mamaria. En ambos casos la actividad 5'D no se modificó.

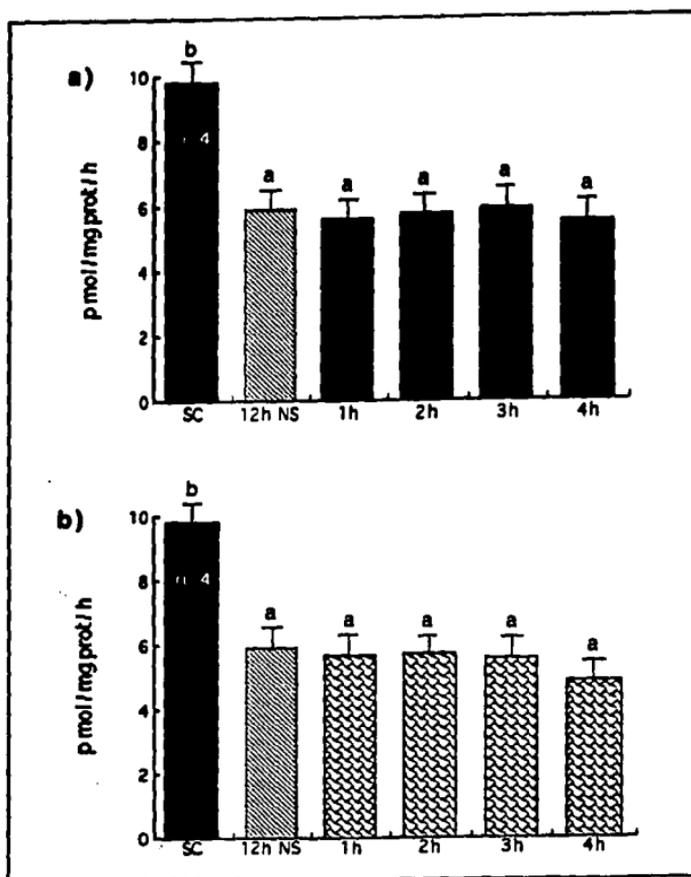
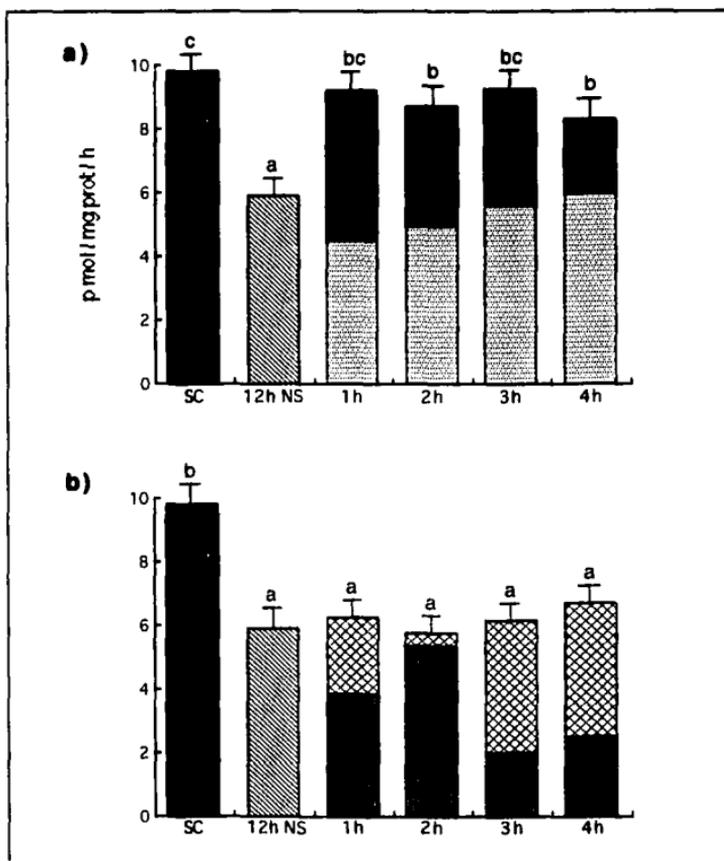


Figura 12: Efecto de a) oxitocina y b) hormona de crecimiento sobre la actividad 5'D-I mamaria, en ratas lactantes primíparas con 10 días de lactación. En todos los casos el No. de animales utilizados fue 4 (n=4). Las letras semejantes arriba de las barras indican grupos estadísticamente equivalentes ($p < 0.05$). SC, succión continua; 12h NS, 12 horas de no succión.

Efecto del bloqueo específico de NA, A y PRL durante la resucción: La figura 13 muestra el efecto de bloqueadores α (panel A) y β (panel B) adrenérgicos, así como de bromocriptina (panel c), sobre la estimulación 5'D mamaria provocada por la resucción. En los diferentes grupos controles (ratas no succionadas) se puede apreciar que durante las primeras 3 horas post-administración, en ningún caso, la sola inyección del fármaco fue capaz de producir algún efecto sobre la 5'D mamaria. Por el contrario, en los grupos tratados con propranolol y bromocriptina y al cabo de las 4 horas, la actividad enzimática disminuye significativamente.



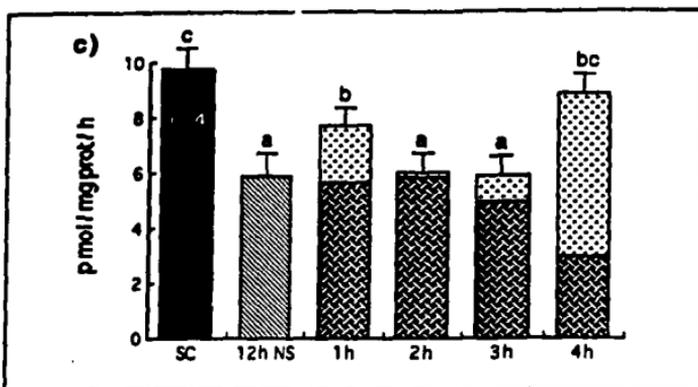


Figura 13: Efecto de a) fentolamina (100 μ g), b) propranolol (100 μ g) y c) bromocriptina (2.5mg); con y sin succión, sobre la actividad 5'D-I mamaria, en ratas lactantes primíparas con 10 días de lactación. En todos los casos el No. de animales utilizados fué 4 (n=4). Las letras semejantes arriba de las barras indican grupos estadísticamente equivalentes ($p < 0.05$). SC, succión continua y 12h NS, 12 horas de no succión.

El panel A muestra que el bloqueo α -adrenérgico durante la resucción, se acompaña de una rápida y sostenida estimulación de la 5'D mamaria. Por el contrario, el bloqueo de receptores β (panel B) inhibe completamente la estimulación que la resucción tiene sobre la actividad enzimática. El panel C muestra que la bromocriptina no modifica la estimulación 5'D asociada a la resucción.

Efecto dosis respuesta y caracterización del tipo de receptor adrenérgico: La figura 14 muestra el efecto dosis respuesta de la 5'D a NA a las 4 horas postinyección. Se observa que la NA estimula significativamente a la enzima de acuerdo a la dosis y siempre supera al valor observado en animales con succión continua.

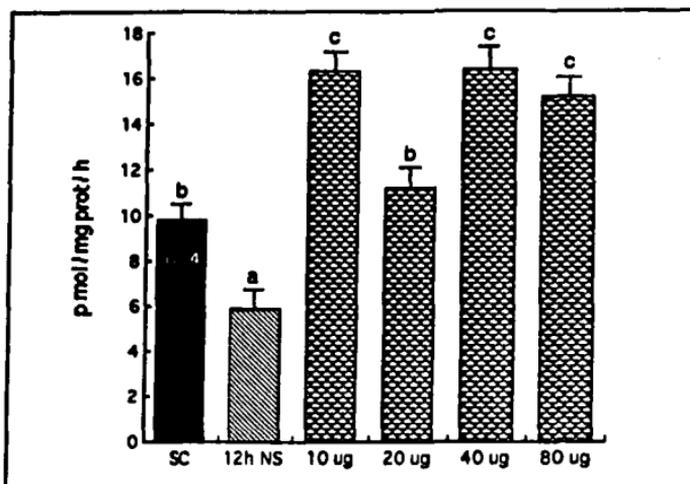
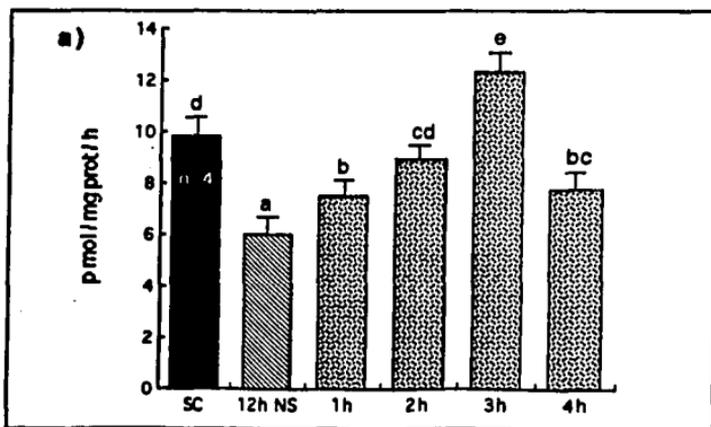


Figura 14: Curva dosis-respuesta de la actividad 5'D-I mamaria en ratas lactantes primíparas con 10 días de lactación, a diferentes dosis de noradrenalina a 4 horas.

La figura 15 muestra el efecto de la administración de NA en combinación con una antagonista α (fentolamina, panel A) y con uno β (propranolol, panel B). Se observa que el efecto de NA no se abate cuando se bloquean los receptores α ; por el contrario, la respuesta enzimática desaparece cuando se bloquean los receptores β .



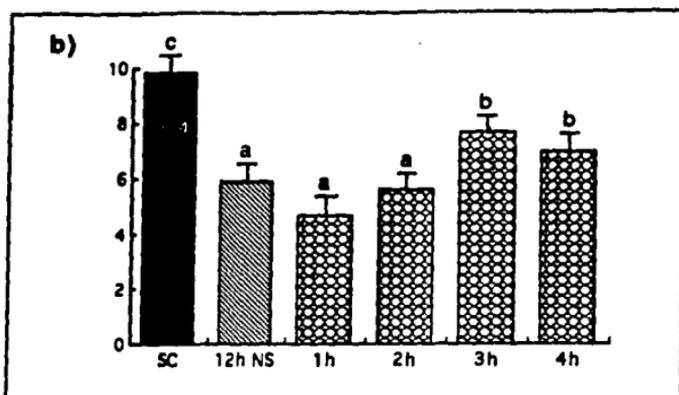


Figura 15: Efecto de las combinaciones a) noradrenalina / fentolamina ($10\mu\text{g} / 100\mu\text{g}$) y b) noradrenalina / propranolol ($10\mu\text{g} / 100\mu\text{g}$) sobre la actividad 5'D-I mamaria, en ratas lactantes primíparas con 10 días de lactación. Las letras semejantes arriba de las barras indican grupos estadísticamente equivalentes. Suc Con, succión continua; 12h No Suc, 12 horas de no succión y n= No. de animales utilizados.

La figura 16 muestra el efecto del agonista general β -adrenérgico, isoproterenol. Una vez más, se muestra una estimulación significativa de la enzima cuando se activan los receptores adrenérgicos tipo β .

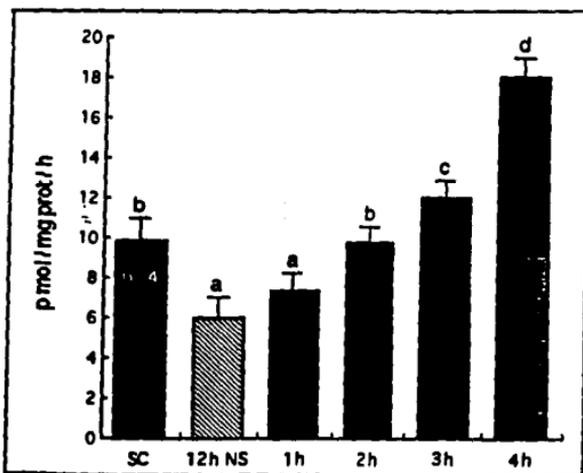


Figura 16: Efecto de isoproterenol ($100\mu\text{g}$) sobre la actividad 5'D-I mamaria, en ratas lactantes primíparas con 10 días de lactación. En todos los casos el No. de animales utilizados fué 4 ($n=4$). Las letras semejantes arriba de las barras indican grupos estadísticamente equivalentes ($p<0.05$). SC, succión continua y 12h NS, 12 horas de no succión.

La figura 17 muestra el efecto dosis respuesta a A a la 1a. y 4a. horas postinyección. A la 1a. hora postinyección se observa un incremento en la actividad 5'D-I mamaria dependiendo de la dosis de adrenalina, exceptuando a los 80 ug, donde no se observa ningún efecto. A la 4a. hora se observa un efecto marcado de la adrenalina con una dosis de 80 ug, mientras que las otras dosis empleadas no presentan ningún incremento en la actividad enzimática.

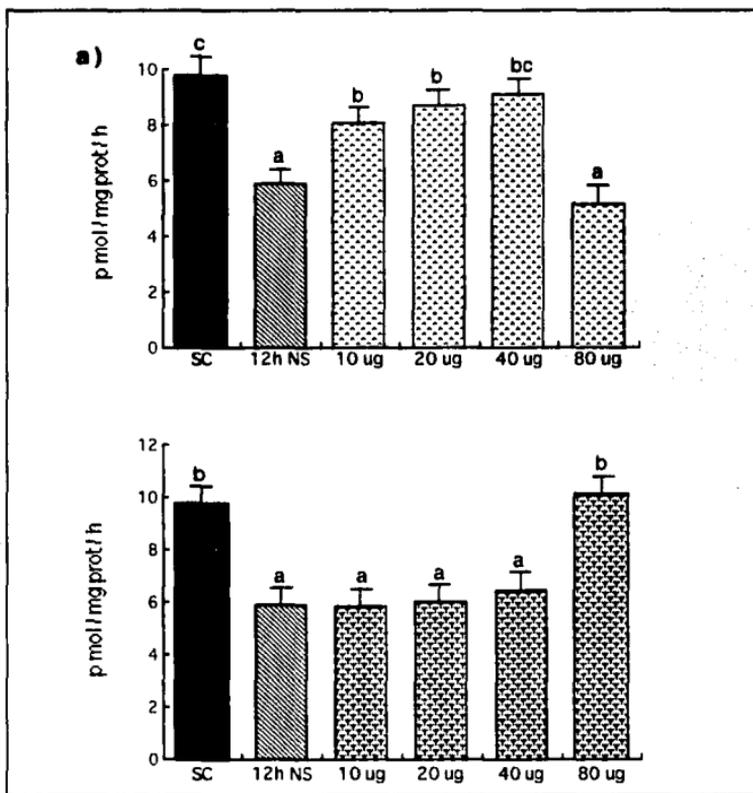


Figura 17: Curvas dosis-respuesta de la actividad 5'D-I mamaria en ratas lactantes primíparas con 10 días de lactación, a diferentes dosis de a) adrenalina a la 1a y b) 4a horas postinyección. En todos los casos el número de animales utilizados fue 4 (n=4). Las letras semejantes arriba de las barras indican grupos estadísticamente equivalentes ($p < 0.05$). SC, succión continua y 12h NS, 12 horas de no succión.

La figura 18 muestra el efecto de la A en combinación con fentolamina (antagonista α -adrenérgico, panel A) y con propranolol (antagonista β -adrenérgico, panel B). Se observa que la A retrasa y aminora su efecto cuando se bloquean los receptores α ; mientras que la estimulación enzimática producida por la A desaparece cuando se bloquean los receptores tipo β .

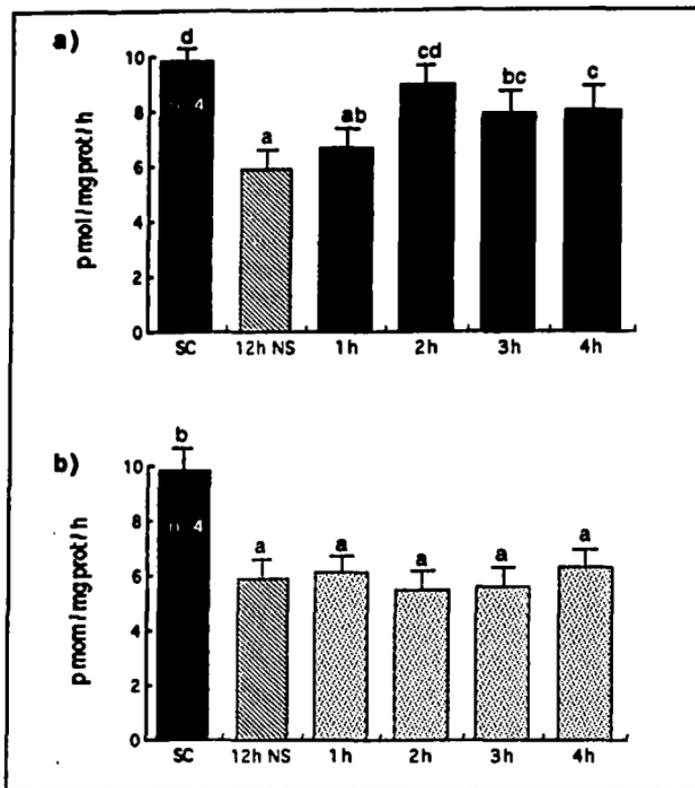


Figura 18: Efecto de las combinaciones a) adrenalina / fentolamina (10 μ g / 100 μ g) y b) adrenalina / propranolol (10 μ g / 100 μ g) sobre la actividad 5'D-I mamaria, en ratas lactantes primíparas con 10 días de lactación. Las letras semejantes arriba de las barras indican grupos estadísticamente equivalentes ($p < 0.05$). SC, succión continua; 12h NS, 12 horas de no succión y n= No. de animales utilizados.

DISCUSION

En trabajos previos del laboratorio, se ha demostrado que la 5'D mamaria depende del estímulo de la succión y que el intervalo de no-succión límite al cual se puede aún restablecer la actividad enzimática es de 12 horas aproximadamente (Ramírez-C, I. *et al.* 1993 y Aceves, C. *et al.* 1995). Utilizando el modelo de ratas primíparas con 12 horas de no succión, en la presente tesis se analizó la participación individual sobre la estimulación de la 5'D, de las diferentes hormonas que se liberan con la succión.

Como primer punto, establecimos cual era el curso temporal de la respuesta enzimática a la succión. Encontramos que se requieren de 4 horas para restablecer la actividad desyodativa, y que esta respuesta es bifásica. La resucción incrementa la actividad 5'D mamaria de manera moderada a partir de la primera hora y a la cuarta hora se presenta el mayor efecto estimulador. También mostramos que la respuesta se instala en los primeros minutos de succión, ya que cuando colocamos a las crías solo 15 minutos, obtuvimos las mismas respuestas enzimáticas que exhibían las madres que fueron resuccionadas durante las 4 horas. Estos datos sugieren que la enzima es estimulada por hormonas que se liberan durante los primeros minutos de succión. Los estudios realizados con relación a la liberación hormonal durante la succión, han mostrado que en los primeros minutos se liberan a la circulación catecolaminas adrenales (A y NA), OT, PRL, TSH y ACTH (cita xc: Grosvenor, C. E. y Mena, F. 1971 y Clapp, C. *et al.*; 1987). También se ha demostrado en la rata, que un intervalo de succión de 15 minutos cada 6 horas, es suficiente para vaciar la GM de leche y mantener la lactancia en condiciones óptimas (Clapp, C. *et al.*; 1987). Estos estudios y los hallazgos encontrados en la presente tesis sugieren que la desyodación forma parte en los mecanismos que sostienen la producción láctea.

Recientemente se obtuvo un cDNA que codifica para la desyodasa tipo I hepática (Berry, M; *et al.* 1991a). Los estudios realizados con dicha sonda han mostrado que aunque todas las enzimas tipo I descritas son similares; ya que todas

hibridizan con el cDNA obtenido, su regulación varía dependiendo del órgano que las contiene. Así, por ejemplo, la 5'D-I de la tiroides es regulada por TSH (Erickson, V. J. *et al.* 1982), mientras que la hepática y la renal es modificada por el estatus tiroideo (hiper o hipotiroidismo), pero no por TSH. Aunado a esto, la enzima hepática; y no las otras enzimas, se incrementa significativamente con la ingesta dietética; principalmente carbohidratos, así como por NA, y disminuye con cortisol y GH (Rothwell, N. J. *et al.* 1982 y Aceves. C. *et al.* 1994). Los resultados de la presente tesis muestran que las catecolaminas son el más potente estimulador de la 5'D mamaria *in vivo* y que su efecto está mediado a través de receptores β . El análisis de ambas catecolaminas mostró que a concentraciones bajas (10 μ g), la A estimula rápida y transitoriamente (primera hora), mientras que la NA tiene un efecto más tardío (4 horas) pero más potente y sostenido. Los resultados también mostraron que a concentraciones altas, (80 μ g) la A provoca una segunda respuesta tardía semejante a la observada con la NA. Este dato indica que aunque la A es un potente beta-estimulante, la primera respuesta (rápida y transitoria) podría ser indirecta; es decir, mediada a través de su conocida acción hiperglucemiante (Weiner, N. 1982). La sugerencia de esta acción indirecta está basada en el dato de que la enzima hepática responde a la glucosa de manera rápida y transitoria, no involucra síntesis proteica, lo cual parece deberse a un aumento de cofactores; tipo glutatión reducido, que utiliza este tipo enzimático (Gavin, L. A. *et al.* 1981; Rothwell, N. J. *et al.* 1982 y Gavin, L. A. *et al.* 1987). Aunque lo anterior no ha sido probado para la tipo I mamaria, se conoce que la sobrealimentación con glucosa estimula significativamente la actividad de esta enzima en la GM lactante (Aceves, C. *et al.* 1994).

La posible explicación del hallazgo en este estudio de que la NA es más potente que la A para estimular a los receptores β alveolares, estriba principalmente en la anatomía de la GM. Efectivamente, aunque las dos catecolaminas se dieron en forma subcutánea, la A es más vasoconstrictora que la NA (Weiner, N; 1982) y por tanto, esta última puede llegar con más facilidad a las células alveolares. Este punto esta apoyado por el hallazgo de que al bloquear los receptores α -adrenérgicos (principales blanco de NA), la respuesta a NA se adelanta. Esto puede interpretarse

como que el bloqueo de los receptores α -adrenérgicos favorecen la unión de la NA hacia los receptores β alveolares, semejando un aumento en la concentración de la hormona. Por otro lado, la fentolamina produce vasodilatación y provoca la liberación de NA por las neuronas presinápticas (Weiner, N. 1982). Además, fisiológicamente también parece ser la NA el estimulador endógeno. Efectivamente, la NA además de ser liberada por la glándula suprarrenal como respuesta a la succión, es también liberada por las terminaciones nerviosas que inervan a la GM, por lo que alcanza concentraciones locales superiores que la A (Hebb, C. y Linzell, J. L. 1970).

Con respecto a la PRL, aunque se conoce que dicha hormona presenta efectos sinérgicos con las hormonas tiroideas (*v gr.* promueven la síntesis de las dos subunidades de la enzima lactosa-sintetasa, encargada de la síntesis de la lactosa) (Tucker, H. A. 1988), en el caso de la desyodasa mamaria los datos presentes parecen indicar que participa de manera discreta e indirecta en su regulación. Efectivamente, la PRL solo incrementó la actividad enzimática después de 2 horas de manera discreta y acumulativa (hasta un 30%); mientras que el bloqueo de su liberación (por bromocriptina) no fue capaz de inhibir el restablecimiento de la actividad. Aunque en este trabajo no se demuestra, es posible que la estimulación observada por la PRL sea indirecta sobre el recambio celular de la enzima. Se ha demostrado que la vida media de las enzimas desyodasas es directamente proporcional al recambio celular del citoesqueleto. La T_4 favorece el recambio enzimático, aumentando la formación de fibras de F-actina, que son requeridas para la internalización a la poza endosomal de las desyodasas, donde la enzima permanece inactiva (Leonard, J. L. 1992). De esta manera, se ha demostrado que la producción de yodotironinas puede alterarse, controlando la inactivación de las desyodasas, sin necesidad de cambiar el nivel de síntesis enzimática. Aunque no ha sido demostrado que la PRL tenga este efecto específico sobre las desyodasas, existen evidencias que muestran que en otras células y condiciones, esta hormona modifica el recambio del citoesqueleto (Tata, J. *et al.* 1991). Esta sugerencia permitiría también explicar el efecto estimulante acumulativo que observamos en los animales tratados con la combinación NA/PRL. Además, la administración de estas dos hormonas exhibió una respuesta muy similar a la obtenida fisiológicamente solo con la resucción.

En el caso de la OT y la GH, demostramos que en un intervalo de 4 horas, ambas hormonas parecen no participar en la restitución de la actividad 5'D-I mamaria. Este dato contrasta con una publicación reciente que muestra que la administración de 5 inyecciones (una diaria) de 200 mg de hormona de crecimiento a vacas lecheras induce un incremento significativo en la 5'D mamaria (Capuco *et al.* 1989). Esta discrepancia puede explicarse en parte por las siguientes consideraciones 1) El esquema de administración; crónico vs agudo. 2) la cantidad de hormona administrada, 3) El tipo enzimático es diferente; ya que la GM lactante de la vaca tiene solamente enzima 5' D-II (Kahl, S; *et al.* 1993).

Los resultados obtenidos en esta tesis muestran que la glándula mamaria elabora una gran cantidad de T_3 local y que el control de su producción (desyodación) durante la lactancia media, está determinada principalmente por las catecolaminas y la PRL. Anteriormente mencione que la interacción PRL- catecolaminas juega un papel crucial en la regulación de la lactancia. Efectivamente, se ha sugerido que la PRL tiene un efecto estimulante sobre la división y funcionalidad de las células alveolares, mientras que las catecolaminas parecen tener una acción inhibitoria de la lactancia a través de sus efectos de vasoconstricción, principalmente. Así, la combinación de ambos mecanismos durante las diferentes etapas de la lactancia, permiten explicar la instalación, mantenimiento y cese de esta función (cita xc: Grosvenor, C. E. y Mena, F. 1971 y 1973). Durante el establecimiento de la lactancia (galactogénesis o lactancia temprana) la PRL alcanza sus valores más altos de secreción por succión y la glándula mamaria contiene el mayor número de receptores. En contraste, las catecolaminas se secretan poco y las células alveolares exhiben el menor número de receptores adrenérgicos de toda la lactancia (Marchetti, B. *et al.* 1992). Esta combinación establece por tanto un predominio de los mecanismos de estimulación alveolar. Durante la galactostasis o lactancia media se alcanza un equilibrio en la liberación de estas hormonas, decrecen los receptores a PRL y aumentan los catecolaminérgicos, dando como resultado una estabilización a la función. Por último durante la galactolisis, la hipófisis se vuelve más refractaria a la succión y se secreta menor cantidad de PRL, mientras que el sistema simpático (glándula suprarrenal y nervios mamaros) secreta más catecolaminas. En este

(glándula suprarrenal y nervios mamaros) secreta más catecolaminas. En este periodo, los receptores a PRL y catecolaminérgicos están invertidos: pocos de PRL y muchos de catecolaminas. Esta combinación inicia los mecanismos de cese de la lactancia.

El presente trabajo muestra, que en el caso específico de la desyodación mamaria y durante la lactancia media, ambos mensajeros parecen tener efectos estimulantes que permiten mantener una elevada cantidad de T_3 en las células alveolares, es decir, se estimula la síntesis enzimática (por NA) y al mismo tiempo se incrementa su vida media (por PRL). Bajo esta perspectiva es posible que durante las otras etapas de la lactancia, estos efectos estimulantes se modifiquen de acuerdo con las demandas fisiológicas de la glándula mamaria. Esta sugerencia debe sustentarse con experimentos específicos en donde se analice la tasa de secreción de leche y la vida media de la enzima en las diferentes etapas de la lactancia.

Desde el punto de vista integrativo, los resultados de esta tesis permiten proponer que la interacción PRL-catecolaminas refuerzan la noción de que la desyodación órgano-específica de las tironinas forma parte de los mecanismos homeorréticos que permiten jerarquizar el gasto energético del animal lactando. Además, permiten sugerir que dentro del esquema funcional de la lactancia, la interacción PRL-sistema nervioso autónomo representa el coordinador homeorrético, que se encarga de controlar esta demanda fisiológica, mientras que la desyodación es el mecanismo metabólico celular, gracias al cual la GM es capaz de soportar la elevada demanda energética que se le exige, para poder desempeñar una lactación exitosa.

De esta manera, el modelo de la lactación y la regulación de la desyodación de las hormonas tiroideas, nos permite estudiar y entender el intrincado rearrreglo fisiológico que establece un organismo, para poder soportar con éxito demandas metabólicas y del cual depende su sobrevivencia.

CONCLUSIONES

- 1.- La succión restablece la actividad enzimática 5'D en la glándula mamaria de ratas con 12 horas de no succión en un periodo de 4 horas y con un comportamiento bifásico.
- 2.- Este restablecimiento enzimático requiere de un periodo de succión de 15 minutos.
- 3.- La succión ejerce su efecto estimulante sobre la enzima 5'D mamaria a través de hormonas que se liberan en los primeros minutos del estímulo.
- 4.- En la estimulación enzimática participan cuando menos adrenalina, noradrenalina y prolactina.
- 5.- La noradrenalina fue el mas potente estimulador de la enzima y parece ejercer su efecto a través de receptores β -adrenérgicos.
- 6.- La administración simultánea de noradrenalina y prolactina producen una respuesta enzimática diferente a las exhibidas cuando se administran separadamente y se asemeja a la ejercida por la succión.
- 7.- Todos estos datos sugieren que la regulación de la enzima es compleja y multifactorial.
- 8.- Este trabajo sugiere que la desyodación forma parte de los mecanismos homeorréticos que permiten mantener la lactancia.

BIBLIOGRAFIA

Abramson, M. J; Wormald, P. J. y Millar, R. P. (1987). Neuroendocrine regulation of thyrotropine release in cultured human pituitary cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 65:1159-1163.

Aceves, C; Navarro, L; Ramírez del Angel, A; Luna, M. y Valverde-R, C. (1994). Lactation selectively modifies 5'monodeiodinase responses to glucose overfeeding. *Endocrine.* 2:547-551.

Aceves, C, Rodón, C. Wilson, S. Pineda, O. Valverde-R, C. (1995). Mammary 5'-Deiodinase (5'D) during the breeding cycle of the rat. Indirect evidence that 5'D type I is specific to the alveolar epithelium. Enviado a revisión.

Aceves, C; Ruiz, J. A; Romero, C. y Valverde-R, C. (1985). Homeorrhesis during early lactation. Euthyroid sick-like syndrome in lactating cows. *Acta Endocrinol. (Kbh)* 110: 505-509.

Aceves, C. y Valverde-R, C. (1987). Lactación, homeorrhesis y hormonas tiroideas. *Vet. Mex.* 18: 215-228.

Aceves, C. y Valverde-R C. (1989). Type I, 5'-monodeiodinase activity in the lactating mammary gland. *Endocrinol.* 124: 2818-2820.

Ahquist, R. P. (1948) (Tomado de Goodman, A. *et al.* 1982). A study of adrenotropic receptors. *Am. J. Physiol.* 153: 586-600.

Anguiano, B; Aceves, C; Navarro, L; Ramirez del Angel, A; Luna, M. y Valverde-R, C. (1991). Neuroendocrine regulation of adrenal 5'monodeiodination during acute cold exposure in rat. I. Thyroxine 5'-deiodinase activity in the hypothalamic pituitary adrenal axis and the sympatoadrenomedullary system; effects of hypophysectomy. *Endocrinol.* 128:504-508.

Arimura, A. y Schally, A. V. (1976). Increase in basal and thyrotropin-releasing

hormone (TRH)-stimulated secretions of thyrotropine (TSH) by passive immunization with antiserum to somatostatin in rats. *Endocrinol.* 98:1069-1072.

Bagchi, N. y Brown, R. T. (1986). Adaptation of male and female rats to iodine deficiency. *Horm. Metab. Res.* 18:811-813.

Baird, G. D. (1981). Metabolic modes indicative of carbohydrate status in the dairy cow. *Federations Proc.* 40:2530-2535.

Bastomsky, C. H. (1974) (Tomado de McNabb, A. 1992). Thyroid iodine transport. En: *Handbook of physiology, sección 7: Endocrinology, vol. III: Thyroid*, Editores, Greer, M. A. y Solomon, D, H. pp. 81-99. *Am. Physiol. Soc.*

Bauman, D. y Currie, W. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanism involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* 63:1514-1529.

Bauman, D. Eiseman, J. y Currie, W. (1982). Hormonal effects on partitioning of nutrients for tissue growth: role of growth hormone and prolactin. *Fed. Proc.* 41: 2538-2544.

Bernard, C. (1994). Introducción al estudio de la medicina experimental. Versión de Izquierdo, J. J. 3a. edición, Facultad de Medicina; UNAM.

a) Berry, M. J; Baun, L. y Larsen, P. R. (1991). Type I iodothyronine deiodinase is a selenium containing enzyme. *Nature.* 349:483-440.

b) Berry, M; Kieffer, J. D; Harney, J. W. y Larsen, P. R. (1991). Selenocysteine confers the biochemical properties characteristic of the type I iodothyronine deiodinase. *J. Biol. Chem.* 266:14155-14158.

Bibanco, A. C. y Silva, J. E. (1988). Cold exposure rapidly induces virtual saturation of brown adipose tissue nuclear T_3 receptors. *Am. J. Physiol.* 255:E496-E503.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of 1514-1529. micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.

Cannon, W. B. (1941). *La sabiduría del cuerpo*. Ed. Séneca, México.

Capuco, A. V; Keys, J. E. y Smith, J. J. (1989). Somatotrophin increases thyroxine-5'-monodeiodinase activity in lactating mammary tissue of the cow. *J. Endocrinol.* 121:205-211.

Cavallieri, R. R. y Pitt Rivers, R. (1981). The effects of drugs on the distribution and metabolism of thyroid hormones. *Pharmacol. Rev.* 33:55-80.

Chambard, M; Verrier, B; Gabrion, J. y Mauchamp, J. (1983). Polarization of the thyroid cells in culture: evidence for the basolateral localization of the iodine "pump" and of the thyroid-stimulating hormone receptor-adenyl cyclase complex. *J. Cell Biol.* 96:1171-1177.

Chernoff, S. B. y Rawitch, A. B. (1981). Thyroglobulin structure-function: isolation and characterization of thyroxine containing peptide from bovine thyroglobulin. *J. Biol. Chem.* 256:9425.

Chin, W. W; Shupnik, M. A; Ross, D. S; Habener, J. F. y Ridgway, E. C. (1985). Regulation of the alpha and thyrotropin beta subunit messenger ribonucleic acids by thyroid hormones. *Endocrinol.* 116:873-878.

Chiraseveenupapund, P. y Rosenberg, I. N. (1981). Effects of hydrogen peroxidase-generating systems on the Wolff-Chaikoff effect. *Endocrinol.* 109:2095.

Clapp, C; Martínez-Escalera, G; Aguayo, D. y Mena, F. (1987). Regulación integrativa de la lactancia. *Bol. Estud. Med. Biol.* 35:63-107.

Cowie, A. T. (1957). The maintenance of lactation in the rat after hypophysectomy. *J. Endocrinol.* 16:134-147.

Cranzt, F. R; Silva, J. E. y Larsen, P. R. (1982). An analysis of the sources and quantity of 3,5,3'-triiodothyronine specifically bound to nuclear receptors in rat cerebral cortex and cerebellum. *Endocrinol.* 110:367-375.

Danforth, E. Jr. (1986). Effects on fasting and altered nutrition on thyroid hormone

metabolism in man. En: Hennemann, G. (Ed). *Thyroid Hormone Metabolism*. Marcel Dekker, Inc. pp: 335-358.

Danforth, E. Jr. y Burger, A. G. (1989). The impact of nutrition on thyroid hormone physiology and action. *Ann. Rev. Nutr.* 9:201-227.

Davis, P. J. (1991). Cellular actions of thyroid hormones. pp. 190-203. En: *The thyroid gland*. Editores: Braverman, L. E. y Utiger, R. D. J. B. Lippincott, Company.

Dunford, H. B. y Ralston, I. M. (1983). On the mechanism of iodination of thyrosine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 116:639.

Eales, J. G; Higgs, D. A; Uin, L. M; MacLatchy, D. L. Bres, O; McBride, J. R. y Dosarij, B. S. (1990). Influence of dietary lipid and carbohydrate levels and chronic 3,5,3' - triiodo-L-thyronine treatment on thyroid function in immature rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 80:146-154.

Ekholm, R. (1979). *Thyroid Physiology*; Cap. 23 Anatomy and Developmet; pág. 305-309. En: *Endocrinology*. Vol. 1. Edtrs. DeGroot, L. J. Edt. Grune & Stratton, Inc.

Ekholm, R. (1981). Iodination of thyroglobulin. An intracellular or extracellular process? *Molec. Cell. Endocrinol.* 24:141-163.

Ekholm, R. y Björkman, U. (1990). Structural and functional integration of the thyroid gland. Capítulo 2: pp. 37-81. En: *The thyroid gland*. Editor: Greer, M. A. Raven Press.

Erickson, V. J; Cavalleri, R. R. y Rosenberg, L. L. (1982). Thyroxine-5'-Deiodinase of rat thyroid, but not that of liver, is dependent on thyrotropin. *Endocrinol.* 111:434-440.

Erickson, L. E. y Fredriksson, G. (1990). Phylogeny and ontogeny of the thyroid gland. Capítulo 1: pp. 1-35. En: *The thyroid gland*. Editor: Greer, M. A. Raven Press.

Evans, R. M. (1988). The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science.* 240:889.

Feldman, J. D; Vasquez, J. J. y Kurtz, S. M. (1961). Maturation of the rat fetal thyroid. *J.*

Biophys. Biochem. Cytol. 11:365-383.

Field, J. B. (1991). Mechanism of action of thyrotropin and other thyroid growth factors; pp. 276-286. En: *The thyroid gland*. Editores: Braverman, L. E. y Utiger, R. D. J. B. Lippincott Company.

Field, J. B.; Ealey, P. A.; Marshall, N. J. y Cockcroft, S. (1987). Thyroid-stimulating hormone stimulates increases in inositol phosphates as well as cyclic AMP in the FRTL-5 rat thyroid cell line. *Biochem. J.* 247:519.

Fisher, D. A.; Dussault, J. H.; Sack, J. y Chopra, I. J. (1977). Ontogenesis of hypothalamic-pituitary-thyroid function and metabolism in man, sheep and rat. *Rec. Progr. Horm. Res.* 33:59-116.

Fisher, D. A. y Klein, A. H. (1981). Thyroid development and disorders of thyroid function in the newborn. *New Engl. J. Med.* 304:704-712.

Frati, L.; Bilstad, J. y Edelhofer, H. (1974). Biosynthesis of the 27S thyroid iodoprotein. *Arch. Biochem. Biophys.* 162:126.

Galton, V. A. y Hiebert, A. (1988). The ontogeny of the enzyme systems for the 5' - and 5'-deiodination of thyroid hormones in chick embryo liver. *Endocrinol.* 120:2604-2610.

Gavin, L. A.; Cavalieri, R. R. y Moeller, M. (1987). Glucose and insulin reverse the effects of fasting on 3,5,3'-triiodothyronine neogenesis in primary cultures of rat hepatocytes. *Endocrinol.* 121:858-864.

Gavin, L. A.; McMahon, F. A. y Moeller, M. (1981). Carbohydrate in contrast to protein feeding increases the hepatic content of active thyroxine 5'-deiodinase in the rat. *Endocrinol.* 109:530-536.

Giraff, M.; Iglesias, R.; Villarroya, F. y Mampel, T. (1987). Changes in liver iodothyronine 5'-deiodinase activity during pregnancy and lactation in the rat. *Horm. Metabol. Res.* 19:510-511.

Glass, C. K.; Franco, R. y Weinberger, C. (1987). A c-erb-A binding site in rat growth

hormone gene mediates trans-activation by thyroid hormone. *Nature*. 329:783.

Gorbman, A. y Bern, H. A. (1983). Thyroid gland; pp 185-276. En: *Comparative endocrinology*. Edt. John Wiley & Sons, Inc.

Green, W. L. (1987) (Tomado de McNabb, A. 1992). Physiology of the thyroid gland and its hormones. En: *The thyroid*. Ed. Green, W. L. pp 1-46, Elsevier.

Grosvenor, C. E. y Mena, F. (1971) (Tomado de Clapp, C. *et al.* 1987). Effect of suckling upon the secretion and release of prolactin from the pituitary of the lactating rat. *Biennial Sym. of Animal Reprod.* 32:Suppl. 1:115-136.

Grosvenor, C. E. y Mena, F. (1973) (Tomado de Clapp, C. *et al.* 1987). Evidence that suckling pups, through an exteroceptive mechanism, inhibit the milk stimulatory effects of prolactin in the rat during late lactation. *Hormones and Behaviour*. 4:209-222.

Grosvenor, C. E. y Mena, F. (1973). Evidence for a time delay between prolactin release and the resulting rise in milk secretion rate in the rat. *J. Endocrinol.* 58:31-39.

Grosvenor, C. E.; Mena, F. y Whitworth, N. S. (1979). The secretion rate of prolactin in the rat during suckling and its metabolic clearance rate after increasing intervals of nonsuckling. *Endocrinol.* 104: 372-376.

Hanwell, A. y Linzell, J. L. (1973). The time course of cardiovascular changes in lactation in the rat. *J. Physiol.* 233: 93-109.

Hardy, R. N. (1979). Homeostasis. Cuadernos de Biología, Ediciones Omega, S. A.

Hebb, C. O. y Linzell, J. L. (1951) (Tomado de Clapp, C. 1987). Some conditions affecting the blood flow through the perfused mammary gland with special reference to the action of adrenalin. *Quart. J. Exptl. Physiol.* 36:159-175.

Hebb, C. y Linzell, J. L. (1970). Inervation of the mammary gland. A histochemical study in the rabbit. *Histochem. J.* 2:491-505.

Hennemann, G. y Roelof, D. (1990). Plasma transport proteins and their role in tissue

delivery of thyroid hormone. En: *The thyroid gland*. Capítulo 6, pp. 221-231. Editor: Greer, M. A. Raven Press, Ltd.

Hollenberg, S. M; Weinberger, C. y Ong, E. S. (1985). Primary structure and expression of a functional glucocorticoid receptor cDNA. *Nature*. 318:835.

Hollman, K. H. (1974). Cytology and fine structure of the mammary gland. pp. 3-96. En: *Lactation*, vol. 1. Editores: Larson, B. L. y Smith, V. R. New York and London: Academic Press.

Huang, T-S; Chopra, I. J. Beredo, A; Solomon, D. H. y Chua, G. N. (1985). Skin is an active site for the inner ring monodeiodination of thyroxine to 3,3',5' -triiodothyronine. *Endocrinol*. 117:2106-2113.

Ishimura, K. y Fujita, H. (1979). Development of cell-to-cell relationships in the thyroid gland of the chick embryo. *Cell Tiss. Res*. 198:15-25.

Izumo, S. y Mahdavi, V. (1988). Thyroid hormone receptor a isoforms generated by alternative splicing differentially active myosine HC gene transcription. *Nature*. 334:539.

Kahl, S. J. y Capuco, A. V. (1993). Characterization of thyroxine-5'-deiodinase in mammary tissue of the cow, sow and rat. *Livestock Production Sciences*. 35: 177-178.

Kaplan, M. M. (1986). Regulatory influences on iodothyronine deiodination in animal tissues. pp. 231-253. En: *Thyroid hormone metabolism*. Editor: Henneman, G. Marcel Dekker Inc.

Kaplan, M. M; Visser, T. J; Yaskosky, K. y Leonard, J. L. (1983). Characteristics of iodothyronine tyrosyl ring deiodination by rat cerebral cortical microsomes. *Endocrinol*. 112:35.

Kaplan, M. M. y Yaskoski, K. A. (1981). Maturational patterns of iodothyronine phenolic and tyrosyl ring deiodinase activities in rat cerebrum, cerebellum and hypothalamus. *J. Clin. Invest*. 67:1208-1214.

Kennedy, G. C. (1967) Ontogeny of mechanism controlling food and water intake. En: Handbook of Physiology. Sec. 6: Alimentary canal. vol. 1. pp: 337-351.

Kimura, S; Kotani, T; Ohtaki, S. Aoyama, T. cDNA-directed expression of human thyroid peroxidase. FEBS lett. 250:377.

Kohrie, J; Hesch, D. y Leonard, J. L. (1991). Intracellular pathways of iodothyronine metabolism. pp. 144-189. En: The thyroid gland. Editores:: Braverman, L. E. y Utiger, R. D. J. B. Lippincott, Company.

Krenning, E. P. y Docter, R. (1986). Plasma membrane transport of thyroid hormone. pp. 107-131. En: Thyroid hormone metabolism. Editor. Hennemann, G. Marcel Dekker Inc.

Lands, A. M; Arnold, A; McAuliff, J. P; Luduena, F. P. y Brown, T. G. Jr. (1967 a). Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. Nature. 214, 597-598.

Lands, A. M; Luduena, F. P. y Buzzo, H. J. (1967 b). Differentiation of receptors responsive to isoproterenol. Life Sci. 6, 2241-2249.

Leonard, J. L. (1990). Identification and structure analysis of iodothyronine deiodinases. Capítulo 9, pp. 285-305. En: The thyroid gland. Editor: Greer, M. A. Raven Press.

Leonard, J. L. (1992). Regulation of T3 production in the brain. Acta Medica Austriaca. 4th. thyroid symposium. Brain and Thyroid. pp. 6-8.

Leonard, J. L. y Rosenberg, I. N. (1980). Iodothyronine 5'-deiodinase from rat kidney: substrate specificity and 5'-deiodination of reverse triiodothyronine. Endocrinol. 124: 1376-1383.

Leonard, J. L; Siegrist-Kaiser, A. C. y Zuckerman, C. J. (1990). Regulation of type II iodothyronine 5'-deiodinase by thyroid hormone. J. Biol. Chem. 265:940-946.

Lissitzky, S. (1984). Thyroglobulin entering into molecular biology. J. Endocrinol.

Invest. 7:65-76.

Lockhard, R. D; Hamilton, G. F. y Fyfe, F. W. (1965). Glándula tiroidea; pág. 484-486. En: Anatomía humana. 1a. ed. Nueva editorial Interamericana, S. A. de C. V.

Long, C. A. (1969). The origin and evolution of mammary glands. Bioscience 19:519-523.

Magner, J. A. (1990). Thyroid-stimulating hormone: Biosynthesis, cell biology, and bioactivity. Endocrine Rev. 11:354-385.

Magnunsson, R. P; Gestautas, J; Taugog, A. y Rapoport, B. (1987). Molecular cloning of the structural gene for porcine thyroid peroxidase. J. Biol. Chem. 262:13885.

Marchetti, B; Fortier, M. A; Poyet, P; Follia, N; Pelletier, G. y Labrie, F. (1990). β -Adrenergic receptors in the rat mammary gland during pregnancy and lactation: Characterization, distribution and coupling to adenylate cyclase. Endocrinol. 126: 565-574.

Marrig, C; Rolland, M. y Lissitzky, S. (1982). Structure-function relationship in thyroglobulin: amino acids sequence of two different thyroxine-containing peptides from porcine thyroglobulin. EMBO J. 1:397.

Mason, M. D. (1968). A review of psychoendocrine research on the sympathetic-adrenal medullary system. Psychosom. Med. 30: 631-653.

Mcgrath, M; Palmer, S. y Nandi, S. (1985). Differential response of normal rat mammary epithelial cells to mammary hormones and EGF. J. Cellular Physiol. 125: 182-191.

McNabb, F. M. A. (1988). Peripheral thyroid hormone dynamics in precocial and altricial avian development. Amer. Zool. 28:427-440.

McNabb, F. M. A. (1992). Cap. 2 Structure of the thyroid gland; pág. 7-20. En: Thyroid Hormones. Edt. Prentice Hall; Endocrinology Series.

Mephram, T. B. (1987). The structure of mammary gland. *Capítulo 2*, pp. 15-29. En: *Physiology of lactation*. Open University Press.

Minneman, K. P; Hegstrand, L. R. y Molinoff, P. B. (1979). Simultaneous determination of beta-1 and beta-2 adrenergic receptors in tissues containing both receptors subtypes. *Mol. Pharmacol.* 15, 286-298.

Morley, J. E. (1981). Neuroendocrine control of thyrotropine secretions. *Endocrine Rev.* 2:396-436.

Nagataki, S. (1991). Other factors regulating thyroid function. pp. 306-312. En: *The thyroid gland*. Editores. Braverman, L. E. y Utiger, R. D. J. B. Lippincott Company.

Nathanielsz, P. W. (1976) (Tomado de MacNabb, A. 1990). The fetal thyroid. II. The thyroid in the rat, human and sub-human primate fetus. En: *Fetal endocrinology. An experimental approach*. vol 1, *Monographs in fetal physiology*, ed. Nathanielsz, P. W. pp. 73-87. North Holland Publ. Co.

Nikodem, V. M; Petty, K, J; Mitsuhashi, T. y Desvergne, B. (1990). Structure and mechanism of action of thyroid hormone receptors. *Capítulo 10*, pp. 307-321. En: *The thyroid gland*. Editor: Greer, M. A. Raven Press.

Nunez, J. y Pommier, J. (1982). Formation of thyroid hormones. *Vitamin. Horm.* 39:175-229.

Ohtaki, S; Nakagawa, H; Kimura, S. y Yamazaki, I. (1981). Analyses of catalytic intermediates of hog thyroid peroxidase during its iodinating reaction. *J. Biol. Chem.* 256:805.

Ohtaki, S; Nakagawa, H; Nakamura, M. y Yamazaki, I. (1982). Reaction of purified hog thyroid peroxidase with H₂O₂, tyrosine, and methylmercaptoimidazole (goitrogen) in comparison with bovine lactoperoxidase. *J. Biol. Chem.* 257:761.

O'Neill, B; Magnolato, D. y Semenza, G. (1987). The electrogenic, Na⁺ -dependent I⁻ transport system in plasma membrane vesicles from thyroid gland. *Biochem. Biophys.*

Acta. 896:263.

Oppenheimer, J. H. (1991). Thyroid hormone action at the molecular level. pp. 204-224. En: *The thyroid gland*. Editores. Braverman, L. E. y Utiger, R. D. J. B. Lippincott Company.

Oppenheimer, J. H.; Koerner, D. y Schwartz, H. L. (1972). Specific nuclear triiodothyronine binding sites in rat liver and kidney. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 35:330.

Oppenheimer, J. H. y Schwartz, H. L. (1986). Thyroid hormone action at the nuclear level. pp. 383-415. En: *Thyroid hormone metabolism*. Editor: Hennemann, G. Marcel Dekker Inc.

Pazos-Moura, C; Moura, E. G; Dorés, M. L; Rehnmark, S; Melendez, L; Silva, J. E. y Taugog, A. (1991). Effect of iodine deficiency and cold exposure on thyroxine 5'-deiodinase activity in various rat tissues. *Am. J. Physiol.* 260: 175-182.

Petty, K. J; Desvergne, B. y Mitsuhashi, T. (1989). Identification of a thyroid hormone response element in the malic enzyme gene. *J. Biol. Chem.* 265:7395.

Pierce, J. G. (1971). The subunits of pituitary thyrotropin; their relationships to other glycoprotein hormones. *Endocrinol.* 89:1331.

Pittman, C. S. (1979). Hormone metabolism. En: *Endocrinology*. Volumen 1, pp. 365-372. Editores: DeGroot, L. J. *et al.* Grune & Stratton.

Pontecorvi, A. y Robbins, J. (1986). Energy-dependent uptake of 3,5,3'-triiodo-L-thyronine in rat skeletal muscle. *Endocrinol.* 119:2755-2761.

Ramírez-C, I; Aceves, C. y Valverde-R, C. (1993). Participación de catecolaminas (NA y A), hormona de crecimiento (GH) y prolactina (PRL) en la estimulación de la 5'Desiodasa mamaria (Ma 5'D). VI congreso nacional estudiantil de investigación en el área de la salud. Marzo 1993. Fac. Med. UNAM.

Raven, P. H. y Johnson, G. B. (1989). Mammals. pp. 863-866. En: *Biology*. 2nd. Edition. Times Mirror/Mosby College Publishing.

Rawitch, A. B; Taurog, A; Chernoff, S. B. y Dorris, M. L. (1979). Hog thyroid peroxidase: Physical, chemical and catalytic properties of the highly purified enzyme. Arch. Biochem. Biophys. 194:244-257.

Remy, L; Verrier, B; Michel-Bechet, M; Mazzella, E. y Athouel-Haon, M. (1983). Thyroid follicular morphogenesis mechanism: organ culture of fetal gland as an experimental approach. J. Ultrastruct. Res. 82:283-295.

Robbins, J. (1991). Thyroid hormone transport proteins and the physiology of hormone binding. pp. 111-126. En: The thyroid gland. Editores. Braverman, L. E. y Utiger, R. D. J. B. Lippincott Company.

Robbins, J. y Salvatore, G. (1985) (Tomado de McNabb, A. 1992). Answered and unanswered questions in thyroglobulin studies. En: Thyroglobulin-the prothyroid hormone. Progeas in endocrine research and therapy, vol. 2. Editores, Eggo, M. C. y Burrow, G. N. pp. 325-331. Raven Press.

Rosenberg, I. N. y Goswami, A. (1979). Purification and characterization of a flavoprotein from bovine thyroid with iodothyrosine deiodinase activity. J. Biol. Chem. 254:12318-12325.

Rotwhell, N. J; Saville, M. E. y Stock, M. J. (1982). Sympathetic and thyroid influences on metabolic rate in fed, fasted, and refed rats. Am. J. Physiol. 243:R339-R346.

Salvatore, G; Vecchio, G. y Salvatore, M. (1965). 27S thyroid iodoprotein. J. Biol. Chem. 240:2935.

Sap, J; Muñoz, A. y Damm, K. (1986). The c-erb-A protein is a high affinity receptor for thyroid hormone. Nature. 324:635.

Scanlon, M. F. (1991). Neuroendocrine control of thyrotropin secretion. En The thyroid gland. Editores: Braverman, L. E. y Utiger, R. D. J. B. Lippincott Company.

Schmidt, G. H. (1971). Mammary gland anatomy. pp. 6-35. En: Biology of lactation. W. H. Freeman.

Sekura, R. D; Sato, K; Cahnmann, H. J; Robbins, J. y Jakoby, W. B. (1981). Sulfate transfer to thyroid hormones and their analogs by hepatic aryl sulfotransferases. *Endocrinol.* 108:454-456.

Sejelid, R. (1967). Endocytosis in thyroid follicle cells. V. On the redistribution of cytosomes following stimulation with thyrotropic hormone. *J. Ultrastructure Res.* 18:479-488.

Sejelid, R. (1970). The early phase of endocytosis in rat thyroid follicle cell. *Lab. Invest.* 23:595-605.

Shepard, T. H. (1967). Onset of function in the human fetal thyroid: biochemical and radioautographic studies from organ culture. *J. Clin. Endocrinol.* 27:945-958.

Shepard, T. H. (1971) (Tomado de McNabb, A.; 1992). Development of the human fetal thyroid. pp. 767-780. En: *Hormones in development*. Ed. Hamburg, M. y Barrington, E. J. W. Appleton-Century-Crofts.

Silva, J. E; Dick, T. E. y Larsen, P. R. (1978). The contribution of local tissue thyroxine monodeiodination to nuclear 3,5,3' -triiodothyronine in pituitary, liver and kidney of euthyroid rats. *Endocrinol.* 103:1196-1207.

Silva, J. E. y Larsen, P. R. (1978). Contributions of plasma triiodothyronine and local thyroxine monodeiodination to triiodothyronine to nuclear triiodothyronine receptor saturation in pituitary, liver and kidney of hypothyroid rats. Further evidence relating saturation of pituitary nuclear triiodothyronine receptors and the acute inhibition of thyroid-stimulating hormone release. *J. Clin. Invest.* 61:1247.

Silva, J. E. y Matthews, P. (1984). Thyroid hormone metabolism and the source of plasma triiodothyronine in 2-week-old rats: Effects of thyroid status. *Endocrinol.* 115:2394-2405.

Sterling, K; Tsuboyama, G. y Brenner, M. A. (1988). Thyroid hormone action: Early calorogenic effect on dispersed rat liver cells in the absence of protein synthesis. *Endocrine Res.* 14:109-116.

Stevenson, J. A. F. (1967). Central mechanisms controlling water intake. En: *Handbook of Physiology*, Sec. 6: Alimentary canal. vol. 1. pp: 173-190.

Tata, J. R; Ernster, L. y Lindberg, O. (1963). The action of thyroid hormones at the cell level. *Biochem. J.* 86:408.

Tata, J; Kawahara, A. y Baker, B. (1991). Prolactin inhibits both thyroid hormone-induced morphogenesis and cell death in culture amphibian larval tissues. *Dev. Biol.* 146:72-80.

Taugog, A. (1991). Hormone synthesis: Thyroid iodine metabolism. pp. 51-97.: En: *The thyroid gland*. Editores. Braverman, L. E. y Utiger, R. D. J. B. Lippincott Company.

Taugog, A; Dorris, M. L. y Lamas, L. (1974). Comparisons of lactoperoxidase- and thyroid peroxidase-catalyzed iodination and coupling. *Endocrinol.* 94:1286.

a) Taylor, T. y Weintraub, B. D. (1985). Differential regulation of thyrotropin subunit apoprotein and carbohydrate biosynthesis by thyroid hormone. *Endocrinol.* 116:1535-1542.

b) Taylor, T. y Weintraub, B. D. (1985). Thyrotropin (TSH) -releasing hormone regulation of TSH subunit biosynthesis and glycosilation in normal and hypothyroid rat pituitaries. *Endocrinol.* 116:1968-1976.

Testut, L. y Latarjet, A. (1966). Libro X; Artículo primero: Cuerpo Tiroides; pp. 1025-1052. En: *Tratado de anatomía humana*. Tomo tercero; 9a. ed. Salvat Editores, S. A.

Thommes, R. C. (1988). Ontogenesis of regulation of the thyroid gland in the developing chick embryo. *Amer. Zool.* 28:417-426.

Tong, W. (1974) (Tomado de McNabb, A. 1992). Actions of thyroid stimulating hormone. En: *Handbook of physiology, Endocrinology III, Thyroid*, eds. Greer, M. A. y Solomon, D. H. pp. 255-283. Am. Physiol. Soc.

Tooper, Y. y Freeman, J. (1980). Multiple hormones interactions in the developmental biology of the mammary gland. *Physiol. Rev.* 60: 1049-1106.

Tucker, H. A. (1988). Capítulo 56. Lactation and its hormonal control; pp. 2253-2263. En: *The physiology of reproduction*. Editado por: Knobil, E. y Neil, J. et al. Ed. Raven Press, Ltd.

Valverde-R. C.; Aceves, C. y Navarro, A. L. (1994). Hormonas a la medida y para toda ocasión. El caso de las yodotironinas. *Ciencia y Desarrollo*. 111:22-33.

Venstrom, B. L.; Fanshier, L. y Moscovici, C. (1980). Molecular cloning of the avian erythroblastosis virus genome and recovery of oncogenic virus by transfection of chicken cells. *J. Virol.* 36:575.

Visser, T. J. (1990). Importance of deiodination and conjugation in the hepatic metabolism of thyroid hormone. Capítulo 8, pp. 255-263. En: *The thyroid gland*. Editor. Greer, M. A. Raven Press.

Visser, T. J.; Mol, J. A. y Otten, M. H. (1983). Rapid deiodination of triiodothyronine sulfate by rat liver microsomal fraction. *Endocrinol.* 112:1547-1549.

Voogt, J. L. (1991). Lactation. pp. 603-609. En: *Encyclopedia of human biology*, vol. 4. Editor: Dulbecco, R. Academic Press, Inc.

Wakerley, J. B.; Clarke, G. y Summerlee, A. J. S. (1988). Milk ejection and its control. Capítulo 58, pp. 2283-2321. En: *The physiology of reproduction*. Editores: Knobil, E. y Neil, J. Raven Press.

Wartofsky, L. y Burman, K. (1982). Alterations in thyroid function in patients with systemic illness: The "euthyroid sick syndrome". *Endocr. Rev.* 3:164-217.

Weinberger, C.; Hollenberg, S. M. y Rosenfeld, M. G. (1985). Domain structure of human glucocorticoid receptor and its relationship to the *v-erb A* oncogene product. *Nature*. 318:670.

Weiner, N. (1982). Noradrenalina, adrenalina y aminas simpaticomiméticas. En: *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Edtrs. Gilman, A. G. Goodman, L. S. y Gilman, A. 6 edición. Edt. Panamericana.

Weiss, S. J; Philp, N. J. y Grollman, E. F. (1984). Iodine transport in a continuous line of culture cells from rat thyroid. *Endocrinol.* 114:1090.

Wilber, J. F. y Yamada, M. (1990). Thyrotropin-releasing hormone: current concepts; pp 127-145. En: *The thyroid gland*. Editor: Greer, M. A. Raven Press.

Wolff, J. (1964). Transport of iodine and other anions in the thyroid gland. *Physiol. Rev.* 44:45-90.

Wolff, J. y Chaikof, I. L. (1948). Plasma inorganic iodide as an homeostatic regulator of thyroid function. *J. Biol. Chem.* 174:555-564.

Yamamoto, K. y DeGroot, L. J. (1973). Function of peroxidase and NDAPH-cyt c reductase during the Wolff-Chaikoff effect. *Endocrinol.* 93:822.

ANEXO: Farmacología de Agonistas y Antagonistas Adrenérgicos

Catecolaminas

Casi todas las acciones de estos compuestos pueden clasificarse en seis tipos principales (Weiner, N. 1982):

- Acción excitatoria periférica sobre ciertos tipos de músculo liso, como los vasos sanguíneos que irrigan la piel y las mucosas, y sobre las células glandulares como las de las glándulas salivales y sudoríparas.
- Acción inhibitoria periférica sobre otros tipos de músculo liso, como el de la pared del intestino, el árbol bronquial y los vasos sanguíneos que irrigan el músculo esquelético.
- Acción excitatoria cardíaca, responsable de un aumento de la frecuencia cardíaca y la fuerza de contracción.
- Acciones metabólicas, como aumento de la glucogenólisis en el hígado y el músculo, y liberación de ácidos grasos del tejido adiposo.
- Acciones endocrinas, como la modulación de la secreción de insulina, renina y hormonas hipofisarias.
- Acciones sobre el sistema nervioso central, como la estimulación respiratoria y, con algunas drogas, mayor estado de alerta, aumento de la actividad sicomotora y disminución del apetito.

Receptores α y β Adrenérgicos.

La diferencia de acción que tienen las diferentes catecolaminas sobre cada órgano, son debidas a la presencia de diversos receptores celulares, los cuales poseen diferentes sensibilidad y afinidad para estas. De manera general se les han clasificado en dos grupos: receptores alfa (α) y receptores beta (β) (cita xc: Ahlquist, R. P. 1948).

Lands y col. (Lands, A. M. *et al.* 1967 a y b) dividieron a los β -receptores en β_1 y β_2 ; los receptores β_1 adrenérgicos predominan en los tejidos cardíacos, y los receptores β_2 están presentes principalmente en el músculo liso y las células glandulares. Sin embargo, diferentes tejidos pueden poseer ambos receptores en proporciones variables (para revisión vease: Minneman, K. P. *et al.* 1978).

Los receptores α también son heterogéneos. Los llamados α_1 predominan en los sitios receptores postsinápticos del músculo liso y las células glandulares; los receptores α_2 , que se suponen existir en las terminaciones nerviosas, se consideran mediadores de la inhibición presináptica por retroalimentación negativa de la liberación neural de noradrenalina y quizás de acetilcolina.

La relativa sensibilidad de estos receptores a la adrenalina (A), noradrenalina (NA), las dos principales catecolaminas e isoproterenol (Iso); un fármaco agonista adrenérgico se resumen en la siguiente tabla:

Receptor	Sensibilidad
α_1	A \approx NA \approx Iso
α_2	A \approx NA (depende del tejido); Iso=ineficaz
β_1	Iso $>$ A = NA
β_2	Iso \approx A \approx NA

Adrenalina

Tienen particular preponderancia las acciones de esta hormona sobre el corazón y el músculo liso vascular. La A es una de las drogas vasopresoras

más poderosas que se conocen. El mecanismo del aumento de la presión sanguínea debido a la A es triple: estimulación directa del miocardio que aumenta la fuerza de la contracción ventricular (acción inotrópica positiva), mayor frecuencia cardíaca (acción cronotrópica positiva) y lo que es más importante, vasoconstricción en muchos lechos vasculares, especialmente en los vasos de resistencia precapilares de la piel, mucosas y riñón, junto con marcada constricción de las venas.

Dosis muy pequeñas de A (0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) pueden disminuir la presión sanguínea, esto debido a la mayor sensibilidad a la A en los receptores vasodilatadores β_2 que en los receptores constrictores α .

La A es un poderoso estimulante cardíaco. Actúa directamente sobre los receptores β_1 del miocardio y de las células de los tejidos marcapaso y de conducción. La eficiencia cardíaca (trabajo realizado con relación al consumo de oxígeno) es menor.

La A tienen muchas influencias importantes sobre los procesos metabólicos. La A eleva las concentraciones de glucosa y lactato en la sangre debido a la activación, por vía del cAMP, de la glucogenofosforilasa hepática. Esta enzima convierte el glucógeno en glucosa-1-fosfato, el paso limitante de la velocidad en la glucogenólisis. En el músculo el lactato es producto final de la glucogenólisis, produciendo por la misma vía la consiguiente hipergalactacidemia. El efecto estimulante de la A con respecto a la glucogenólisis en casi todos los tejidos y las especies involucra a los β -receptores.

Por otra parte, la A aumenta la concentración sanguínea de ácidos grasos libres por activación de la triglicérido lipasa, esta acción lipolítica también parece estar mediada por cAMP, vía de los receptores β_1 adrenérgicos. Las infusiones de A aumentan generalmente en el plasma el colesterol, los fosfolípidos y las lipoproteínas de baja densidad.

Absorción. La A no alcanza concentraciones farmacológicas activas en el organismo después de su administración oral, porque es rápidamente conjugada y oxidada en la mucosa gastrointestinal y el hígado. La absorción de los tejidos subcutáneos se hace lentamente por la vasoconstricción local. La absorción es más rápida por vía intraperitoneal o intramuscular que subcutánea.

Destino y excreción. La A se inactiva en el organismo pese a su estabilidad en sangre. El hígado, rico en las enzimas responsables de la degradación de la A circulante, es un tejido importante aunque no esencial en el proceso de degradación. La mayor parte de una dosis de A se excreta como metabolitos en la orina (para revisión vease: Weiner, N. 1982).

Noradrenalina

Esta hormona difiere principalmente de la A, por la proporción de su efectividad para estimular a los receptores α y β_2 (ver tabla). Los principales efectos cardiovasculares de la NA son el aumento de la presión del pulso y de las presiones sistólicas y diastólicas. El gasto cardíaco no cambia o disminuye, y la resistencia periférica total aumenta. La circulación sanguínea se reduce en el riñón, el hígado y generalmente el músculo esquelético.

A diferencia de la A, pequeñas dosis de NA no causan vasodilatación ni disminuyen la presión sanguínea, esto debido a que los vasos sanguíneos del músculo esquelético se constriñen y no se dilatan cuando son estimulados por la NA. Otros efectos que causa esta droga son la hiperglucemia y otros efectos metabólicos similares a los producidos por la A, siempre y cuando se apliquen dosis grandes ($> 10\mu\text{g}/\text{kg}$).

Absorción, destino y excreción. La NA es ineficaz cuando se administra oralmente y se absorbe poco en los sitios de inyección subcutánea. Se inactiva

rápidamente en el organismo por acción de las mismas enzimas que metilan y desaminan oxidativamente a la A (para revisión vease: Weiner, N. 1982).

Isoproterenol

El iso tiene una acción potente sobre todos los β -receptores, y casi ninguna acción sobre los α -receptores. Sus principales acciones se ejercen sobre el corazón, el músculo liso de los bronquiolos, los vasos del músculo esquelético y el tracto digestivo. Además ejerce prominentes efectos metabólicos en el tejido adiposo, el músculo esquelético y el hígado.

La infusión intravenosa de iso disminuye la resistencia vascular periférica, principalmente en el músculo esquelético, pero también en los lechos vasculares renales y mesentéricos, con caída de la presión diastólica. El gasto cardíaco se eleva por un aumento en el retorno venoso al corazón. El iso relaja casi todas las variedades del músculo liso cuando el tono es alto, pero esta acción es más pronunciada en el músculo liso bronquial y gastrointestinal.

En cuanto a sus acciones metabólicas, el iso causa menos hiperglucemia que la A, pero es tan eficaz como esta para liberar ácidos grasos. La secreción de insulina se estimula con la glucosa y con la activación β adrenérgica directa de las células de los islotes pancreáticos. Las acciones calorigénicas del iso y de la A son similares.

Absorción, destino y excreción. El iso se absorbe fácilmente cuando se administra por vía parental o en forma de aerosol. Se metaboliza principalmente en el hígado y otros tejidos por acción de la catecol-O-metiltransferasa (COMT), siendo un sustrato relativamente pobre para la monoaminoxidasa (MAO) (para revisión vease: Weiner, N. 1982).

Agentes Bloqueadores Adrenérgicos

Los agentes bloqueadores de receptores adrenérgicos, inhiben la capacidad de los agentes simpaticomiméticos para interactuar eficazmente con sus receptores. Como la sensibilidad farmacológica de los receptores adrenérgicos varía considerablemente, estos agentes pueden interferir selectivamente en las diferentes respuestas que están normalmente mediadas por el sistema nervioso simpático.

El sistema nervioso simpático participa íntimamente en la modulación de numerosos mecanismos homeostáticos. La interferencia en sus funciones deteriora la capacidad del organismo para generar respuestas fisiológicas apropiadas, necesarias para reaccionar a factores ambientales adversos o provocativos. Como muchos de los efectos secundarios causados por estas drogas son comunes a todos los agentes que interfieren en la función simpática, pueden tratarse colectivamente:

Hipotensión postural: El sistema nervioso simpático tiene una intervención fundamental en la regulación de la presión sanguínea, particularmente por modulación del tono vasomotor y de la frecuencia y motilidad cardíacas. El tono venoso está bajo control del sistema nervioso simpático, y si esta regulación se deteriora, la sangre se acumula en los vasos de capacitancia al asumir la posición erecta. La hipotensión postural es especialmente común con agentes bloqueadores α -adrenérgicos.

Aumento en la motilidad gastrointestinal y diarrea: Los agentes simpaticomiméticos inhiben la función gastrointestinal por dos mecanismos: los agonistas β -adrenérgicos causan relajación directa del músculo liso intestinal; los α -agonistas actúan a nivel presináptico para inhibir la liberación de neurotransmisor de las neuronas colinérgicas en la pared intestinal. Por lo tanto, es de esperar que los agentes que interfieren en la función simpática aumenten la motilidad gastrointestinal y causen diarrea.

Aumento del volumen sanguíneo y de la retención del sodio: La hipotensión puede causar una reducción de la circulación renal. Si la filtración glomerular

se reduce, es posible una reabsorción más completa de sodio y agua, con aumento del volumen sanguíneo y del líquido extracelular.

Efectos colaterales limitados a los agentes bloqueadores α -adrenérgicos: La taquicardia refleja es un importante efecto secundario de estas drogas. Muchos agentes α -bloqueadores que actúan en receptores postsinápticos (α_1) también inhiben receptores presinápticos (α_2), con mayor producción de NA por el impulso nervioso y presumible intensificación de los efectos de la estimulación simpática refleja sobre el corazón. La fentolamina y la fenoxibenzamina producen este efecto presináptico.

Efectos secundarios limitados a los agentes bloqueadores β -adrenérgicos: Los efectos secundarios comunes a los agentes bloqueadores β -adrenérgicos se limitan en gran parte a los sistemas cardiovascular y respiratorio y a las alteraciones del metabolismo. Bradicardia y menor gasto cardíaco son algunos de los cambios importantes. La sensibilidad a insulina y a las drogas hipoglucemiantes orales también se asocia con la administración de β -bloqueadores, pues la glucogenólisis en el músculo y en algunas especies en el hígado, está mediada por β -receptores. La broncoconstricción es un efecto secundario común de las drogas β_2 -bloqueadores y de los antagonistas β -adrenérgicos no selectivos (para revisión vease: Weiner, N. 1982).

Agentes Bloqueadores α -adrenérgicos

Los agentes bloqueadores α -adrenérgicos se unen selectivamente a la clase de receptores adrenérgicos y así interfieren en la capacidad de las aminas simpaticomiméticas para iniciar acciones en estos sitios. La fentolamina, talazolina y el prazosin se unen reversiblemente y antagonizan las acciones de las aminas simpaticomiméticas competitivamente.

Fentolamina

La fentolamina produce un bloqueo α -adrenérgico competitivo que es relativamente transitorio. Esta sustancia tiene importantes acciones sobre el músculo liso, que pueden dividirse en tres clases: 1) "simpaticomiméticas", incluyendo estimulación cardíaca; 2) "parasimpaticomiméticas", incluyendo estimulación del tracto gastrointestinal, y 3) "tipo histamina", incluyendo estimulación de la secreción gástrica y vasodilatación periférica.

Además, la fentolamina puede disminuir la resistencia periférica y aumentar la capacidad venosa; esto debido principalmente a una acción directa sobre el músculo liso vascular; lo que provoca una estimulación cardíaca como respuesta refleja a la vasodilatación (para revisión vease: Weiner, N. 1982).

Agentes bloqueadores β -adrenérgicos

El propranolol fue el primer antagonista β -adrenérgico que se uso ampliamente en la clínica, y sigue siendo el más importante de estos compuestos. Es un agente bloqueador β -adrenérgico no selectivo muy potente, sin actividad simpaticomimética intrínseca. pero por su capacidad para bloquear -receptores en el músculo liso bronquial y esquelético, el propranolol interfiere en la broncodilatación producida por la A y otras aminas simpaticomiméticas, y en la glucogenólisis que se produce generalmente durante la hipoglicemia.

El bloqueo de los receptores β tiene poco efecto sobre el corazón normal con el sujeto en completo reposo, pero puede tener efectos profundos cuando el control simpático del corazón es elevado, como ocurre durante el ejercicio.

Propranolol

El propranolol es una gente que bloquea competitivamente a los receptores β_1 y β_2 -adrenérgicos.

Efectos:

Sistema cardiovascular: Los efectos más importantes de las drogas β -bloqueadoras se ejercen sobre el sistema cardiovascular, debido principalmente a acciones sobre el corazón. El propranolol disminuye la frecuencia y el gasto cardíacos, prolongando la sístole mecánica y disminuye ligeramente la presión sanguínea en sujetos en reposo. La resistencia periférica aumenta en consecuencia de reflejos simpáticos compensatorios, y la sangre que afluye a todos los tejidos; excepto el encéfalo, se reduce.

La circulación coronaria total y el consumo miocárdico de oxígeno también disminuyen a consecuencia de reducciones de la frecuencia cardíaca, presión sistólica ventricular y contractilidad.

El propranolol es un efectivo agente antihipertensivo. Para explicar este efecto, se ha propuesto que el propranolol bloquea la liberación de NA, después de la estimulación nerviosa simpática simpática. Además, la liberación de renina del aparato yuxtaglomerular se estimula con agonistas β_2 -adrenérgicos, y este efecto es bloqueado por el propranolol.

Los agentes bloqueadores β -adrenérgicos pueden modificar considerablemente el metabolismo de los hidratos de carbono y las grasas. El propranolol inhibe el aumento de ácidos grasos libres inducido por aminas simpaticomiméticas o por aumento de actividad del sistema nervioso simpático. La respuesta hiperglucémica a la A se reduce con drogas bloqueadoras β -adrenérgicas en casi todas las especies, así como, disminución de la glucogenólisis en el músculo cardíaco y esquelético (para revisión vease: Weiner, N. 1982).
